

JP 2017-200963 A 2017.11.9

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-200963

(P2017-200963A)

(43) 公開日 平成29年11月9日(2017.11.9)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C08G 65/334 (2006.01)	C08G 65/334	4C076
C08F 20/60 (2006.01)	C08F 20/60	4J005
A61K 47/34 (2017.01)	A61K 47/34	4J100
A61K 9/06 (2006.01)	A61K 9/06	

審査請求 未請求 請求項の数 12 O L (全 35 頁)

(21) 出願番号	特願2016-92524 (P2016-92524)	(71) 出願人	301032942
(22) 出願日	平成28年5月2日 (2016.5.2)		国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構
特許法第30条第2項適用申請有り 発行者: ACS publications、刊行物名: analytical chemistry、vol. 87、no. 23、pp. 11625-11629、発行年月日: 平成27年11月3日			千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号
		(74) 代理人	100106909
			弁理士 棚井 澄雄
		(74) 代理人	100188558
			弁理士 飯田 雅人
		(74) 代理人	100161207
			弁理士 西澤 和純
		(72) 発明者	村山 周平
			千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号
			国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所内
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 放射線分解性架橋剤、放射線分解性ゲル、生理活性物質包含ゲル、生理活性物質の活性制御方法及び生理活性物質包含ゲルの活性化方法

(57) 【要約】

【課題】 低線量の放射線による分解性を有し、所望の場所において所望のタイミングで分解可能な放射線分解性架橋剤を提供する。

【解決手段】 本発明の放射線分解性架橋剤は、ポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造を有し、前記鎖状構造における分岐の数が3以上であり、前記鎖状構造の末端に配置された重合性官能基と、前記鎖状構造における分岐の中心と前記ポリエチレングリコール鎖との間、又は前記ポリエチレングリコール鎖と前記重合性官能基との間に配置されたジスルフィド結合と、を含むことを特徴とする。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造を有し、
前記鎖状構造における分岐の数が 3 以上であり、
前記鎖状構造の末端に配置された重合性官能基と、
前記鎖状構造における分岐の中心と前記ポリエチレングリコール鎖との間、又は前記ポリエチレングリコール鎖と前記重合性官能基との間に配置されたジスルフィド結合と、
を含むことを特徴とする放射線分解性架橋剤。

【請求項 2】

前記ポリエチレングリコール鎖におけるエチレングリコール残基の平均繰り返し数が 5 以上 55 以下である請求項 1 に記載の放射線分解性架橋剤。

10

【請求項 3】

前記鎖状構造における分岐の数が 4 又は 8 である請求項 1 又は 2 に記載の放射線分解性架橋剤。

【請求項 4】

前記鎖状構造が、ネオペンチル骨格を有する請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の放射線分解性架橋剤。

【請求項 5】

前記重合性官能基が末端にビニル基、又はビニリデン基を有する請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の放射線分解性架橋剤。

20

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の放射線分解性架橋剤を含むことを特徴とする放射線分解性ゲル。

【請求項 7】

生理活性物質が、請求項 6 に記載の放射性分解性ゲルに包含されていることを特徴とする生理活性物質包含ゲル。

【請求項 8】

平均粒径が 100 nm 以上 300 nm 以下である請求項 7 に記載の生理活性物質包含ゲル。

【請求項 9】

30

生理活性物質を、請求項 6 に記載の放射性分解性ゲルに包含させ、生理活性物質包含ゲルを作製する生理活性物質包含ゲル作製工程と、

前記生理活性物質包含ゲル作製工程後、前記生理活性物質包含ゲルに放射線を照射し、
前記生理活性物質を活性化させる活性化工程と、
を備えることを特徴とする生理活性物質の活性制御方法。

【請求項 10】

前記活性化工程において、照射される放射線の線量が 10 Gy 以下である請求項 9 に記載の生理活性物質の活性制御方法。

【請求項 11】

40

請求項 7 又は 8 に記載の生理活性物質包含ゲルと、細胞とを接触させ、前記生理活性物質包含ゲルを細胞内に導入する導入工程と、

前記導入工程後、前記生理活性物質包含ゲルが導入された細胞に放射線を照射し、前記放射性分解性ゲルから生理活性物質を放出させ、前記生理活性物質を活性化させる活性化工程と、
を備えることを特徴とする生理活性物質包含ゲルの活性化方法。

【請求項 12】

前記活性化工程において、照射される放射線の線量が 10 Gy 以下である請求項 11 に記載の生理活性物質包含ゲルの活性化方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】**

50

【 0 0 0 1 】

本発明は、放射線分解性架橋剤、放射線分解性ゲル、生理活性物質包含ゲル、生理活性物質の活性制御方法及び生理活性物質包含ゲルの活性化方法に関する。

【 背景技術 】

【 0 0 0 2 】

従来、様々な目的で、外部から刺激を与えて分解することが可能なゲルが提案されている。

例えば、重合性官能基を有する光開裂性架橋剤を含む光開裂性ゲル等が挙げられる（例えば、特許文献 1 参照。）。このゲルによれば、生理活性物質を前記光開裂性ゲルに包含させた後、光を照射することにより、所望の場所において所望のタイミングで、前記光開裂性ゲルから前記生理活性物質が放出させることができる。

10

【 0 0 0 3 】

また、例えば、核酸類を架橋させて作製した核酸類ハイドロゲル等が挙げられる（例えば、特許文献 2 参照。）。このゲルによれば、生理活性物質を前記核酸類ハイドロゲルに包含させた後、放射線を照射することにより、所望の場所において所望のタイミングで、前記核酸類ハイドロゲルから前記生理活性物質を放出させることができる。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 4 】

【 特許文献 1 】 再公表 W O 2 0 1 1 / 0 9 3 4 6 1 号 公 報

20

【 特許文献 2 】 特開 2 0 1 4 - 1 0 5 1 8 7 号 公 報

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 5 】

従来のゲルは、光や超音波等の照射により分解性を示すものが多く、身体の深部や骨の近傍では使用できないという問題点があった。

また、従来の放射線の照射により分解性を示すゲルについては、低線量の放射線での分解が未だ達成できていなかった。

【 0 0 0 6 】

本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであって、低線量の放射線による分解性を有し、所望の場所において所望のタイミングで分解可能な放射線分解性架橋剤を提供する。

30

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 7 】

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究した結果、低線量の放射線照射によるジスルフィド結合の切断が、連鎖的なラジカル切断と、ゲルの網目構造の組み換えとを引き起こすことを見出し、本発明を完成させた。

【 0 0 0 8 】

すなわち、本発明は以下の態様を含む。

[1] ポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造を有し、前記鎖状構造における分岐の数が 3 以上であり、前記鎖状構造の末端に配置された重合性官能基と、前記鎖状構造における分岐の中心と前記ポリエチレングリコール鎖との間、又は前記ポリエチレングリコール鎖と前記重合性官能基との間に配置されたジスルフィド結合と、を含むことを特徴とする放射線分解性架橋剤。

40

[2] 前記ポリエチレングリコール鎖におけるエチレングリコール残基の平均繰り返し数が 5 以上 5 5 以下である [1] に記載の放射線分解性架橋剤。

[3] 前記鎖状構造における分岐の数が 4 又は 8 である [1] 又は [2] に記載の放射線分解性架橋剤。

[4] 前記鎖状構造が、ネオペンチル骨格を有する [1] ~ [3] のいずれか一つに記載の放射線分解性架橋剤。

[5] 前記重合性官能基が末端にビニル基、又はビニリデン基を有する [1] ~ [4] の

50

いずれか一つに記載の放射線分解性架橋剤。

[6] [1] ~ [5] のいずれか一つに記載の放射線分解性架橋剤を含むことを特徴とする放射線分解性ゲル。

[7] 生理活性物質が、請求項 5 に記載の放射性分解性ゲルに包含されていることを特徴とする生理活性物質包含ゲル。

[8] 平均粒径が 1 0 0 n m 以上 3 0 0 n m 以下である [7] に記載の生理活性物質包含ゲル。

[9] 生理活性物質を、[6] に記載の放射性分解性ゲルに包含させ、生理活性物質包含ゲルを作製する生理活性物質包含ゲル作製工程と、前記生理活性物質包含ゲル作製工程後、前記生理活性物質包含ゲルに放射線を照射し、前記生理活性物質を活性化させる活性化工程と、を備えることを特徴とする生理活性物質の活性制御方法。

[1 0] 前記活性化工程において、照射される放射線の線量が 1 0 G y 以下である [9] に記載の生理活性物質の活性制御方法。

[1 1] [7] 又は [8] に記載の生理活性物質包含ゲルと、細胞とを接触させ、前記生理活性物質包含ゲルを細胞内に導入する導入工程と、前記導入工程後、前記生理活性物質包含ゲルが導入された細胞に放射線を照射し、前記放射性分解性ゲルから生理活性物質を放出させ、前記生理活性物質を活性化させる活性化工程と、を備えることを特徴とする生理活性物質包含ゲルの活性化方法。

[1 2] 前記活性化工程において、照射される放射線の線量が 1 0 G y 以下である [1 1] に記載の生理活性物質包含ゲルの活性化方法。

【発明の効果】

【 0 0 0 9 】

本発明によれば、低線量の放射線による分解性を有し、所望の場所において所望のタイミングで分解可能な放射線分解性架橋剤を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 0 】

【図 1】本発明の生理活性物質包含ゲルにおける分解機構を模式的に示した図である。

【図 2】実施例 1 における 線照射前後での P E G - S S - A c 又は P E G - A c を架橋剤として用いたナイルブルー包含ゲルから放出されたナイルブルーを測定した結果を示すグラフである。

【図 3】実施例 2 における 線照射前後でのトリプシン包含ゲルの粒径分布を示すグラフである。

【図 4】実施例 2 における 線照射前のトリプシン包含ゲル、直接的に 線照射後のトリプシン包含ゲル、及びブタ組織を介して間接的に 線照射後のトリプシン包含ゲルでのトリプシン活性を測定した結果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 1 】

< 放射線分解性架橋剤 >

一実施形態において、本発明は、ポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造を有し、前記鎖状構造における分岐の数が 3 以上であり、前記鎖状構造の末端に配置された重合性官能基と、前記鎖状構造における分岐の中心と前記ポリエチレングリコール鎖との間、又は前記ポリエチレングリコール鎖と前記重合性官能基との間に配置されたジスルフィド結合と、を含む放射線分解性架橋剤を提供する。

【 0 0 1 2 】

本実施形態の放射線分解性架橋剤は、3 分岐以上の分岐鎖を有する鎖状構造であることから、該鎖状構造の末端に配置された重合性官能基と、該重合性官能基と反応する高分子化合物（例えば、本実施形態の放射線分解性架橋剤同士を重合させたもの等）との間に形成される架橋点（架橋剤 1 分子あたり）が多い。そのため、本実施形態の放射線分解性架橋剤を用いれば、適度な強度を持った放射線分解性ゲルを得ることができる。

また、本実施形態の放射線分解性架橋剤は、低線量の放射線による分解性を有する。よ

10

20

30

40

50

って、本実施形態の放射線分解性架橋剤を含む放射線分解性ゲルは、放射線治療の実用線量範囲である低線量の放射線を照射することにより、所望の場所において所望のタイミングで分解させることができる。

【 0 0 1 3 】

本明細書において、「放射線」とは、アルファ線、ベータ線、中性子線、透過率の高いエックス線及びガンマ線、並びに重粒子線を意味する。本実施形態の放射線分解性架橋剤は、上記いずれの種類の放射線を用いても、ジスルフィド結合が切断され、分解される能力を有する。

【 0 0 1 4 】

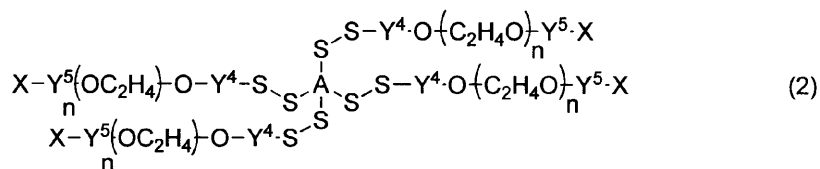
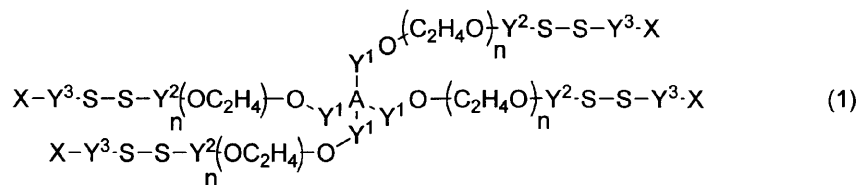
< 化合物 (1) 及び化合物 (2) >

本実施形態の放射線分解性架橋剤としては、例えば、下記一般式 (1) で表される化合物 (本明細書においては、「化合物 (1) 」と称することがある。) 、下記一般式 (2) で表される化合物 (本明細書においては、「化合物 (2) 」と称することがある。) 等が挙げられる。

なお、本実施形態の放射線分解性架橋剤において、下記化合物 (1) 、化合物 (2) として、分岐の数が 4 であるものを例示しているが、分岐の数はこれに限定されない。

【 0 0 1 5 】

【 化 1 】



【 0 0 1 6 】

式中、A は炭素原子又は芳香環である。

n はポリエチレングリコール分岐鎖のエチレングリコール残基の平均繰り返し数であり、5 以上 55 以下の数である。

Y¹、Y²、Y³、Y⁴ 及び Y⁵ は、連結基であり、それぞれ独立に単結合、又は炭素数 1 ~ 10 のアルキレン基である。前記炭素数 1 ~ 10 のアルキレン基中、1 個又は非隣接の 2 個以上のメチレン基 (- CH₂ -) は、それぞれ独立して、ビニレン基 (- CH = CH -)、エチニレン基 (- C ≡ C -)、エーテル結合 (- O -)、カルボニル基 (- C(=O) -)、エステル結合 (- COO -)、オキシカルボニル基 (- OCO -)、アミノ基 (- NH -)、アミド基 (- NHCO -)、ジスルフィド結合 (- SS -)、又はシクロヘキシレン基によって置換されていてもよい。

X は、重合性官能基である。

【 0 0 1 7 】

[ジスルフィド結合]

図 1 は、本発明の生理活性物質包含ゲルにおける分解機構を模式的に示した図である。

本実施形態の放射線分解性架橋剤は、放射線分解性を有するジスルフィド結合を含む。よって、本実施形態の放射線分解性架橋剤を含む生理活性物質包含ゲル 10 は、ジスルフィド結合 1 が放射線により切断されてゲルの網目構造が壊れる。続いて、ジスルフィド結合 1 の切断により生じた硫黄ラジカル 2 同士が反応し、新たなジスルフィド結合 1 と、新

10

20

30

40

50

たな硫黄ラジカル 2 との再生産とを繰り返す。この繰り返しにより、連鎖的に反応が進み、網目構造の大規模な組代わりが起こり、網目の孔径の変化が生じる。その結果、内包された生理活性物質 3 が放出される。

したがって、本実施形態の放射線分解性架橋剤を用いた生理活性物質包含ゲルでは、放射線治療の実用線量範囲である低線量の放射線を照射することで、効率的かつ効果的に放射線分解性ゲルの分解が起こり、所望の場所において所望のタイミングで生理活性物質を放出することが可能である。

【0018】

本明細書において、「網目の孔径」とは、ゲルの網目の大きさを指す言葉であって、立体的な網目を真球形の空間に代表させた場合の、当該真球の直径を意味する。ゲルの網目の孔径は、ゲルの電子顕微鏡写真を用いた画像解析法等の公知の手法により、実測値を求めることもできるが、当該ゲルの仮想的な構造に基づいて算出してもよい。重合性化合物と放射線分解性架橋剤とを共重合して得られるゲルの場合には、仮想的なゲル構造は、重合性化合物及び放射線分解性架橋剤の形状や大きさ、並びに両者の含有比率等に基づいて設定することができる。同様に、放射線分解性架橋剤のみを重合して得られるゲルの場合には、仮想的なゲル構造は、放射線分解性架橋剤の形状や大きさ等に基づいて設定することができる。

10

【0019】

本実施形態の放射線分解性架橋剤において、ジスルフィド結合は、化合物(1)及び化合物(2)に示す通り、前記鎖状構造における分岐の中心と前記ポリエチレングリコール鎖との間、又は前記ポリエチレングリコール鎖と前記重合性官能基との間に配置されている。

20

【0020】

[鎖状構造]

前記化合物(1)及び化合物(2)におけるポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造は、分岐の数が4であるものを例示しているが、分岐の数はこれに限定されず、分岐の数を適宜選択することにより、本実施形態の放射線分解性架橋剤を含むゲルの網目の大きさを適宜調整することができる。前記分岐鎖状の鎖状構造は、ゲルの網目の大きさを、生理活性物質を包含する上でより好ましい大きさに調整できるため、分岐の数は3以上であり、4又は8であることが好ましい。また、分岐の数が4又は8である前記分岐鎖状の鎖状構造は、合成しやすく、入手も容易である。

30

【0021】

前記化合物(1)及び化合物(2)が含むポリエチレングリコール鎖のエチレングリコール残基の平均繰り返し数 n は、5以上55以下であり、10以上50以下であることがより好ましく20以上40以下であることがさらに好ましい。

エチレングリコール残基の平均繰り返し数を上記範囲に設定することで、ゲルの水に対する溶解度を高めることができ、製造時および使用時において扱いの容易で、状態の均一な放射線分解性ゲルを得ることができる。

【0022】

本明細書において、エチレングリコール残基とは、エチレングリコール($\text{HO}-\text{C}_2\text{H}_4-\text{OH}$)の片側末端または両末端の水酸基が他の化合物と縮合反応した後に残る、エチレンオキシ基($-\text{C}_2\text{H}_4-\text{O}-$)をいう。また、エチレングリコール残基は、1又は数個の水素原子がハロゲン原子に置換されていてもよい。ここで、水素原子を置換する前記ハロゲン原子としては、例えば、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子等が挙げられる。中でも、水素原子を置換する前記ハロゲン原子は塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子であることが好ましい。

40

【0023】

前記化合物(1)及び化合物(2)が含むポリエチレングリコール鎖中の1分岐のポリエチレングリコール鎖の分子量は、1000以上10000以下であることが好ましい。1分岐のポリエチレングリコール鎖の分子量が上記範囲であることで、包含する物質の大

50

きさに合わせてゲルの網目の孔径を適宜調整することができる。

【0024】

前記一般式(1)及び前記一般式(2)中、Aは炭素原子又は芳香環である。

Aにおける芳香環としては、例えば、炭素数が4～14であることが好ましい。前記芳香環としては、例えば、フラン環、ピロール環、ベンゼン環、ナフタレン環、アントラセン環、フェナントレン環等が挙げられ、これらに限定されない。

中でも、Aにおける芳香環は、合成しやすいことから、ベンゼン環であることがより好ましい。

【0025】

さらに、Aにおける芳香環は、芳香環の1個以上の水素原子が、ハロゲン原子、水酸基、又は炭素数1～10のアルキル基で置換されたものであってもよい。

ここで、水素原子を置換する前記ハロゲン原子としては、上述の<平均繰り返し数n>で例示されたもの等が挙げられる。

中でも、水素原子を置換する前記ハロゲン原子は塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子であることが好ましい。

【0026】

また、水素原子を置換する前記炭素数1～10のアルキル基としては、直鎖状のものでも分岐鎖状のものでもよく、具体的には、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、tert-ペンチル基、1-メチルブチル基、n-ヘキシル基、2-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、2,2-ジメチルブチル基、2,3-ジメチルブチル基、n-ヘプチル基、2-メチルヘキシル基、3-メチルヘキシル基、2,2-ジメチルペンチル基、2,3-ジメチルペンチル基、2,4-ジメチルペンチル基、3,3-ジメチルペンチル基、3-エチルペンチル基、2,2,3-トリメチルブチル基、n-オクチル基、イソオクチル基、2-エチルヘキシル基、ノニル基、デシル基等が挙げられ、これらに限定されない。

中でも、水素原子を置換する前記炭素数1～10のアルキル基は、直鎖状のものが好ましく、メチル基又はエチル基がより好ましい。

【0027】

前記一般式(1)及び前記一般式(2)におけるAは、合成しやすいことから、炭素原子であることが好ましい。すなわち、本実施形態の放射線分解性架橋剤は、鎖状構造がネオペンチル骨格を有することが好ましい。

【0028】

[連結基Y¹、Y²、Y³、Y⁴及びY⁵]

前記一般式(1)及び前記一般式(2)中、Y¹、Y²、Y³、Y⁴及びY⁵は、連結基であり、それぞれ独立に単結合、又は炭素数1～10のアルキレン基である。

前記炭素数1～10のアルキレン基中、1個又は非隣接の2個以上のメチレン基(-CH₂-)は、それぞれ独立して、ビニレン基(-CH=CH-)、エチニレン基(-CC-)、エーテル結合(-O-)、カルボニル基(-CO-)、エステル結合(-COO-)、オキシカルボニル基(-OCO-)、アミノ基(-NH-)、アミド基(-NHCO-)、ジスルフィド結合(-SS-)、又はシクロヘキシレン基によって置換されていてもよい。

また、一般式(1)中、Y¹、Y²及びY³は、同じでもよく、異なってもよい。

また、一般式(2)中、Y⁴及びY⁵は、同じでもよく、異なってもよい。

【0029】

Y¹、Y²、Y³、Y⁴及びY⁵における前記炭素数1～10のアルキレン基としては、直鎖状のものでも分岐鎖状のものでもよく、具体的には、例えば、メチレン基、エチレン基、n-プロピレン基、n-ブチレン基、n-ペンチレン基、n-ヘキシレン基、n-ヘプチレン基、n-オクチレン基、n-ノニレン基、n-デシレン基等の直鎖状のアルキレン基、2-メチルプロピレン基、2-メチルヘキシレン基、テトラメチルエチレン基等

の分岐鎖状のアルキレン基等が挙げられる。

中でも、 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 、 Y^4 及び Y^5 における前記炭素数 1 ~ 10 のアルキレン基は、直鎖状であることが好ましく、メチレン基、エチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基又は n -ヘキシレン基であることがより好ましい。

【0030】

また、 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 、 Y^4 及び Y^5 における前記炭素数 1 ~ 10 のアルキレン基は、1 又は数個の水素原子がハロゲン原子に置換されていてもよい。ここで、水素原子を置換する前記ハロゲン原子としては、上述の < 平均繰り返し数 n > で例示されたもの等が挙げられる。

中でも、水素原子を置換する前記ハロゲン原子は塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子であることが好ましい。

10

【0031】

[重合性官能基 X]

前記一般式 (1) 及び前記一般式 (2) 中、 X は重合性官能基である。 X における前記重合性官能基としては、共重合性のゲルを作製する際に一般的に用いられている重合性官能基であればよい。 X における前記重合性官能基は、ラジカル重合やカチオン重合、アニオン重合、配位重合、開環重合により互いに重合する官能基であることが好ましく、ラジカル重合により互いに重合する官能基であることがより好ましく、反応部位として末端にビニル基、又はビニリデン基を有する官能基であることがさらに好ましい。 X における前記重合性官能基としては、より具体的には、例えば、アクリル酸残基、メタクリル酸残基、ビニルフェニル基、スチレン基、ジエン基、ビニルエステル基、ビニルアミド基、塩化ビニル基、塩化ビニリデン基、ビニルエーテル基等が挙げられる。

20

【0032】

化合物 (1) で好ましいものとしては、例えば、下記一般式 (1 - 1) で表される化合物 (以下、「化合物 (1 - 1) 」と略記することがある。) 、又は下記一般式 (1 - 2) で表される化合物 (以下、「化合物 (1 - 2) 」と略記することがある。) 等が挙げられる。

なお、これら化合物は、好ましい化合物 (1) の一例に過ぎず、好ましい化合物 (1) はこれらに限定されない。

【0033】

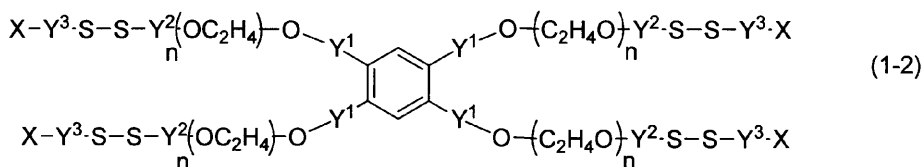
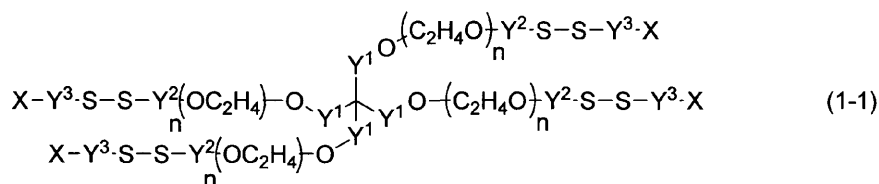
また、化合物 (2) で好ましいものとしては、例えば、下記一般式 (2 - 1) で表される化合物 (以下、「化合物 (2 - 1) 」と略記することがある。) 、又は下記一般式 (2 - 2) で表される化合物 (以下、「化合物 (2 - 2) 」と略記することがある。) 等が挙げられる。

30

なお、これら化合物は、好ましい化合物 (2) の一例に過ぎず、好ましい化合物 (2) はこれらに限定されない。

【0034】

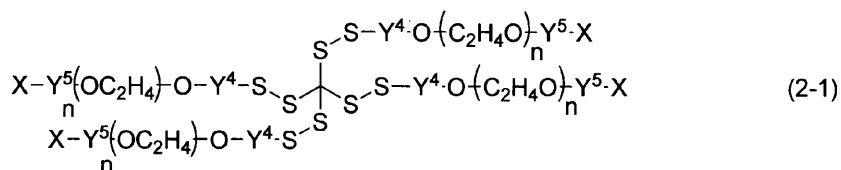
【化 2】



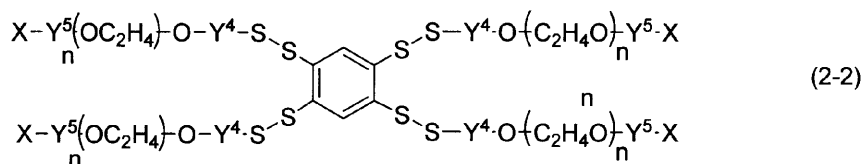
10

【 0 0 3 5 】

【化 3】



20



【 0 0 3 6 】

式中、 n 、 Y^1 、 Y^2 、 Y^3 、 Y^4 、 Y^5 及び X は、いずれも上記と同じである。また、式中、 Y^1 、 Y^2 及び Y^3 は、同じでもよく、異なってもよい。また、 Y^4 及び Y^5 は、同じでもよく、異なってもよい。

30

【 0 0 3 7 】

化合物 (1-1) で好ましいものとしては、例えば、 n が 5 以上 55 以下の数であって、 Y^1 が単結合又はメチレン基であって、 Y^2 がエチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1 個のメチレン基 ($-\text{CH}_2-$) がエーテル結合 ($-\text{O}-$)、カルボニル基 ($-\text{CO}-$)、エステル結合 ($-\text{COO}-$)、オキシカルボニル基 ($-\text{OCO}-$)、アミノ基 ($-\text{NH}-$)、又はアミド基 ($-\text{NHCO}-$) に置換されている基であり、 Y^3 がメチレン基、エチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であり、 X がアクリル酸残基、ビニルフェニル基、スチレン基、ジエン基、ビニルエステル基、ビニルアミド基、塩化ビニル基、又はビニルエーテル基であるもの等が挙げられる。

40

化合物 (1-1) でより好ましいものとしては、例えば、 n が 5 以上 55 以下の数であって、 Y^1 がメチレン基であって、 Y^2 が n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1 個のメチレン基 ($-\text{CH}_2-$) がエステル結合 ($-\text{COO}-$)、オキシカルボニル基 ($-\text{OCO}-$)、アミノ基 ($-\text{NH}-$)、又はアミド基 ($-\text{NHCO}-$) に置換されている基であり、 Y^3 がメチレン基、エチレン基、又は n -プロピレン基であり、 X がアクリル酸残基、又はビニルアミド基であるもの等が挙げられる。

【 0 0 3 8 】

化合物 (1-2) で好ましいものとしては、例えば、 n が 5 以上 55 以下の数であって

50

、 Y^1 が単結合又はメチレン基であって、 Y^2 がエチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1個のメチレン基(-CH₂-)がエーテル結合(-O-)、カルボニル基(-CO-)、エステル結合(-COO-)、オキシカルボニル基(-OCO-)、アミノ基(-NH-)、又はアミド基(-NHCO-)に置換されている基であり、 Y^3 がメチレン基、エチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であり、 X がアクリル酸残基、ビニルフェニル基、スチレン基、ジエン基、ビニルエステル基、ビニルアミド基、塩化ビニル基、又はビニルエーテル基であるもの等が挙げられる。

化合物(1-2)でより好ましいものとしては、例えば、 n が5以上55以下の数であって、 Y^1 が単結合であって、 Y^2 が n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1個のメチレン基(-CH₂-)がエステル結合(-COO-)、オキシカルボニル基(-OCO-)、アミノ基(-NH-)、又はアミド基(-NHCO-)に置換されている基であり、 Y^3 がメチレン基、エチレン基、又は n -プロピレン基であり、 X がアクリル酸残基、又はビニルアミド基であるもの等が挙げられる。

10

【0039】

化合物(2-1)で好ましいものとしては、例えば、 n が5以上55以下の数であって、 Y^4 が単結合、メチレン基、エチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であり、 Y^5 がエチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1個のメチレン基(-CH₂-)がエーテル結合(-O-)、カルボニル基(-CO-)、エステル結合(-COO-)、オキシカルボニル基(-OCO-)、アミノ基(-NH-)、又はアミド基(-NHCO-)に置換されている基であり、 X がアクリル酸残基、ビニルフェニル基、スチレン基、ジエン基、ビニルエステル基、ビニルアミド基、塩化ビニル基、又はビニルエーテル基であるもの等が挙げられる。

20

化合物(2-1)でより好ましいものとしては、例えば、 n が5以上55以下の数であって、 Y^4 が単結合、メチレン基、エチレン基、又は n -プロピレン基であり、 X がアクリル酸残基、又はビニルアミド基であって、 Y^5 が n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1個のメチレン基(-CH₂-)がエステル結合(-COO-)、オキシカルボニル基(-OCO-)、アミノ基(-NH-)、又はアミド基(-NHCO-)に置換されている基であるもの等が挙げられる。

30

【0040】

化合物(2-2)で好ましいものとしては、例えば、 n が5以上55以下の数であって、 Y^4 が単結合、メチレン基、エチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であり、 Y^5 がエチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1個のメチレン基(-CH₂-)がエーテル結合(-O-)、カルボニル基(-CO-)、エステル結合(-COO-)、オキシカルボニル基(-OCO-)、アミノ基(-NH-)、又はアミド基(-NHCO-)に置換されている基であり、 X がアクリル酸残基、ビニルフェニル基、スチレン基、ジエン基、ビニルエステル基、ビニルアミド基、塩化ビニル基、又はビニルエーテル基であるもの等が挙げられる。

40

化合物(2-2)でより好ましいものとしては、例えば、 n が5以上55以下の数であって、 Y^4 が単結合、メチレン基、エチレン基、又は n -プロピレン基であり、 X がアクリル酸残基、又はビニルアミド基であって、 Y^5 が n -ブチレン基、 n -ペンチレン基、又は n -ヘキシレン基であって、1個のメチレン基(-CH₂-)がエステル結合(-COO-)、オキシカルボニル基(-OCO-)、アミノ基(-NH-)、又はアミド基(-NHCO-)に置換されている基であるもの等が挙げられる。

【0041】

化合物(1)のうち、化合物(1-1)の好ましいものとしては、例えば、下記式(1-1-1)で表される化合物(以下、「化合物(1-1-1)」と略記することがある)、下記式(1-1-2)で表される化合物(以下、「化合物(1-1-2)」と略記する

50

ことがある)等が挙げられる。

化合物(1)のうち、化合物(1-2)の好ましいものとしては、例えば、下記式(1-2-1)で表される化合物(以下、「化合物(1-2-1)」と略記することがある)、下記式(1-2-2)で表される化合物(以下、「化合物(1-2-2)」と略記することがある)等が挙げられる。

なお、これら化合物は、好ましい化合物(1)の一例に過ぎず、好ましい化合物(1)はこれらに限定されない。

【0042】

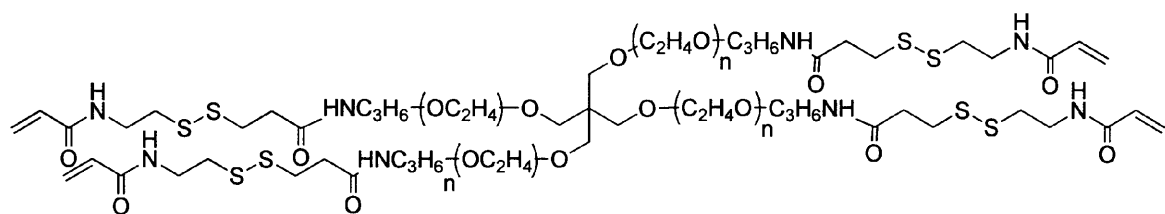
また、化合物(2)のうち、化合物(2-1)の好ましいものとしては、例えば、下記式(2-1-1)で表される化合物(以下、「化合物(2-1-1)」と略記することがある)、下記式(2-1-2)で表される化合物(以下、「化合物(2-1-2)」と略記することがある)等が挙げられる。

化合物(2)のうち、化合物(2-2)の好ましいものとしては、例えば、下記式(2-2-1)で表される化合物(以下、「化合物(2-2-1)」と略記することがある)、下記式(2-2-2)で表される化合物(以下、「化合物(2-2-2)」と略記することがある)等が挙げられる。

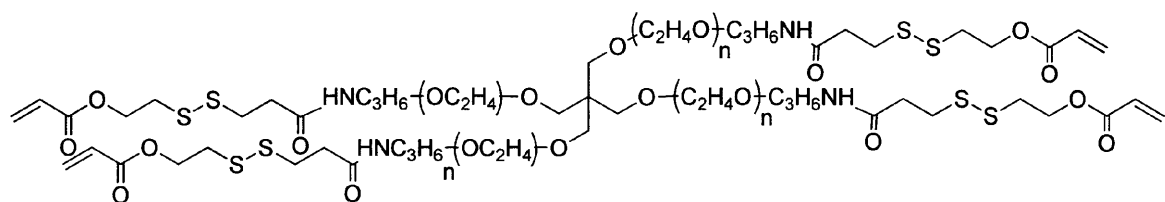
なお、これら化合物は、好ましい化合物(2)の一例に過ぎず、好ましい化合物(2)はこれらに限定されない。

【0043】

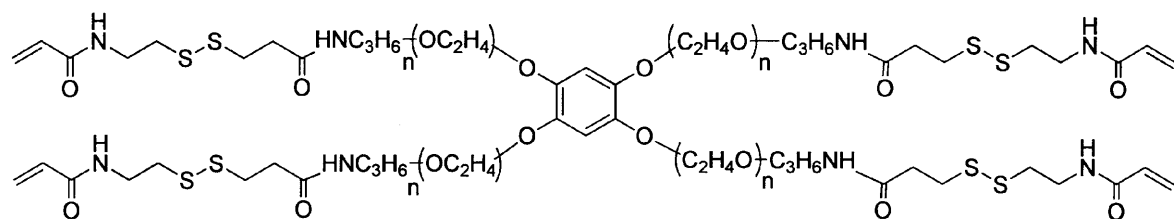
【化 4】



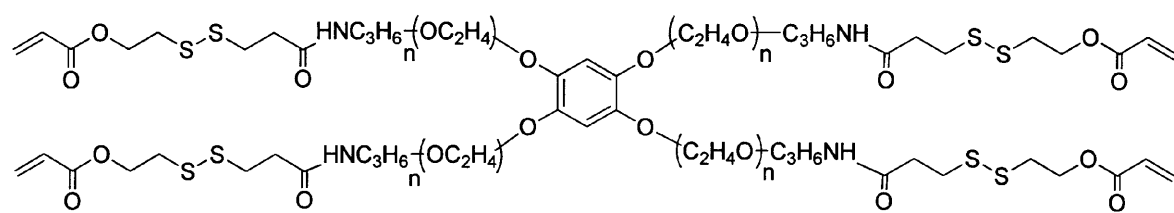
(1-1-1)



(1-1-2)



(1-2-1)



(1-2-2)

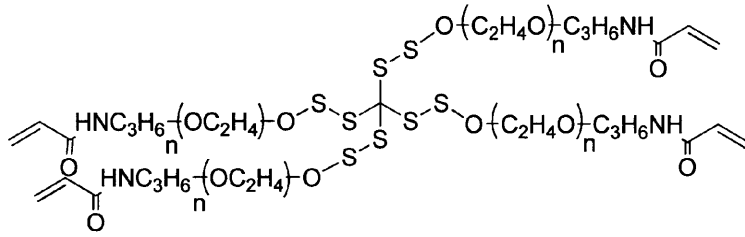
【 0 0 4 4 】

10

20

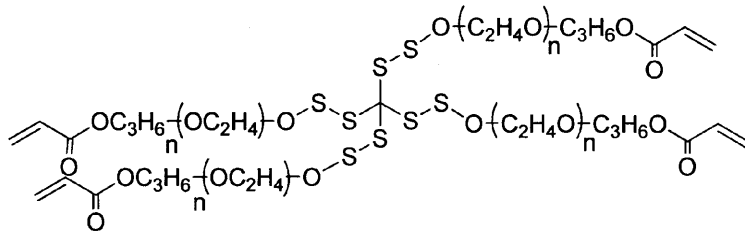
30

【化 5】

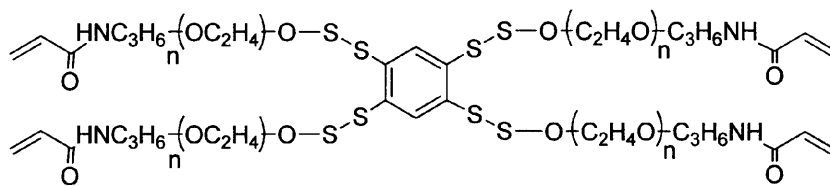


(2-1-1)

10

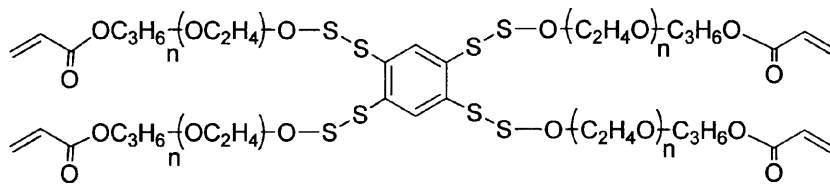


(2-1-2)



(2-2-1)

20



(2-2-2)

30

【0045】

式中、nは、上記と同じである。

【0046】

化合物(1)及び化合物(2)は、ポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造と、前記鎖状構造の末端に配置された重合性官能基と、を有するため、化合物(1)又は化合物(2)を重合させて得られるゲルにおいて、包含する物質の大きさに合わせて、ゲルの網目の大きさを適宜調整することができる。

40

さらに、化合物(1)及び化合物(2)は、前記鎖状構造における分岐の中心と前記ポリエチレングリコール鎖との間、又は前記ポリエチレングリコール鎖と前記重合性官能基との間に配置されたジスルフィド結合を有するため、化合物(1)又は化合物(2)を重合させて得られるゲルにおいて、低線量の放射線の照射により、容易に分解させることができる。

そのため、化合物(1)及び化合物(2)は、放射性分解性架橋剤として特に好適であり、該放射性分解性架橋剤を含む後述の放射線分解性ゲルは、放射線増感剤のキャリア、DDS(ドラッグデリバリーシステム)におけるキャリア、化粧品用のナノ粒子等の用途に好適である。

50

【 0 0 4 7 】

< 化合物 (1) の製造方法 >

化合物 (1) は、例えば、重合性官能基 X の種類、又はエチレングリコール残基の平均繰返し数に応じて、原料となるポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造を有する化合物と、重合性官能基 X 及びジスルフィド結合を有する化合物とを、公知の反応を用いて連結することで製造できる。より具体的には以下のとおりである。

【 0 0 4 8 】

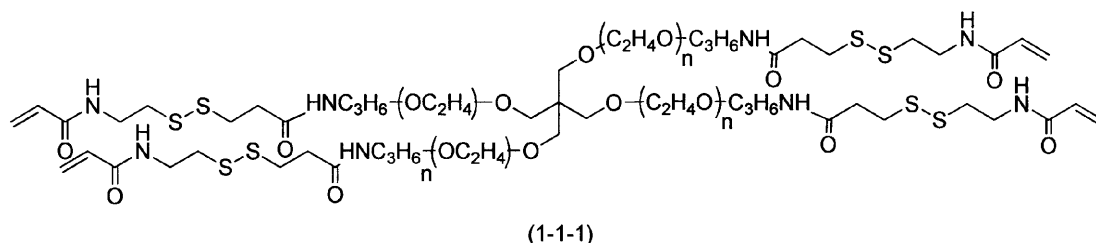
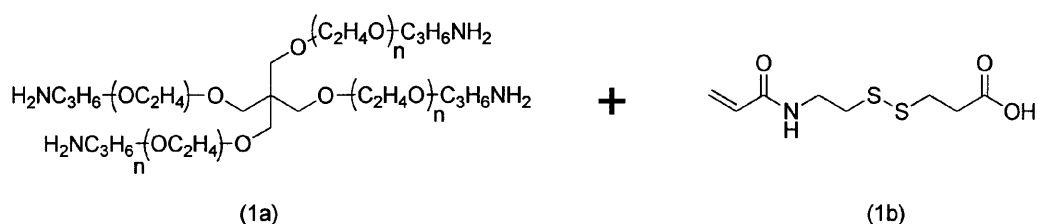
< 1 > 化合物 (1 - 1 - 1) の製造方法

化合物 (1) のうち、化合物 (1 - 1 - 1) は、例えば、下記一般式 (1 a) で表される化合物 (以下、「化合物 (1 a) 」と略記することがある。) と、下記一般式 (1 b) で表される化合物 (以下、「化合物 (1 b) 」と略記することがある。) と、を反応させて、化合物 (1 - 1 - 1) を得る工程 (以下、「化合物 (1 - 1 - 1) 製造工程」と略記することがある。) を有する製造方法により、製造できる。

以下、各工程について、詳細に説明する。

【 0 0 4 9 】

【 化 6 】



【 0 0 5 0 】

[化合物 (1 - 1 - 1) 製造工程]

前記化合物 (1 - 1 - 1) 製造工程においては、化合物 (1 a) と化合物 (1 b) とを反応させて、化合物 (1 - 1 - 1) を得る。

化合物 (1 - 1 - 1) を得る前記反応は、公知の縮合反応である。

【 0 0 5 1 】

(化合物 (1 a))

化合物 (1 a) は公知化合物 (テトラポリエチレングリコールアミン (t e t r a - P E G - a m i n e)) である。

化合物 (1 a) は、縮合反応の原料となるポリエチレングリコール鎖を含む分岐鎖状の鎖状構造を有する化合物である。

【 0 0 5 2 】

n はエチレングリコール残基の平均繰返し数である。n は、5 以上 55 以下であり、10 以上 50 以下であることがより好ましく 20 以上 40 以下であることがさらに好ましい。

エチレングリコール残基の平均繰返し数 n を上記範囲に設定することで、ゲルの水に対する溶解度を高めることができ、製造時および使用時において扱いの容易で、状態の均一な放射線分解性ゲルを得ることができる。

化合物 (1 a) において、所望のエチレングリコール残基の平均繰返し数 n を有する

ものを適宜選択し、市販のものを購入して用いればよい。

【0053】

(化合物(1b))

化合物(1b)は公知化合物である。

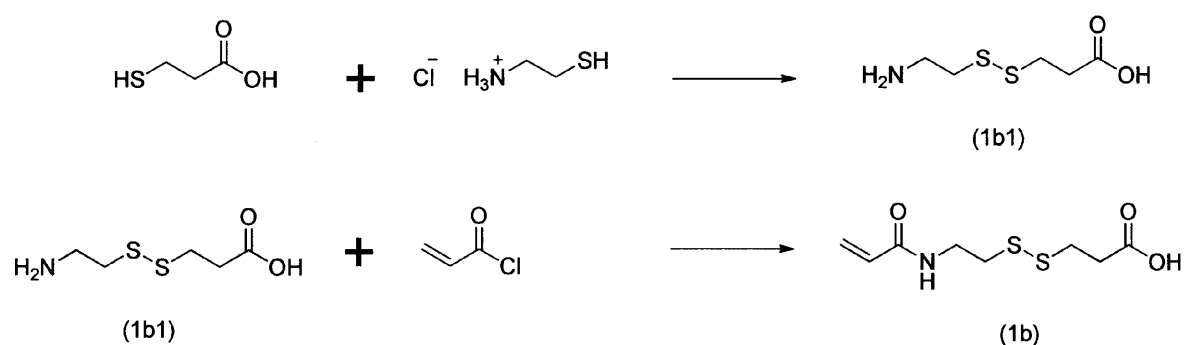
化合物(1b)は、縮合反応の原料となるジスルフィド結合と重合性官能基であるビニルアミド基を有する化合物である。

例えば、化合物(1b)は、3-メルカプトプロピオン酸と2-アミノエタントチオール塩酸塩とを酸化反応にさせて、ジスルフィド結合を有する式(1b1)で表される化合物(以下、「化合物(1b1)」と略記することがある)を得る工程(以下、「化合物(1b1)製造工程」と略記することがある)、及び前記化合物(1b1)と塩化アクリルとを縮合反応させて化合物(1b)を得る工程(以下、「化合物(1b)製造工程」と略記することがある)を有する製造方法により、製造できる。

10

【0054】

【化7】



20

【0055】

化合物(1b1)製造工程においては、例えば、適当な有機溶媒、又は前記有機溶媒及び水の混合溶媒等の水性溶媒を反応溶媒として用いることが好ましい。

化合物(1b1)製造工程において使用可能な有機溶媒としては、例えば、メタノール、エタノール、ジクロロメタン、クロロホルム、トルエン、トリフルオロメチルベンゼン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロピラン、1,4-ジオキサン、メチル-tert-ブチルエーテル等が挙げられ、これらに限定されない。

30

前記溶媒は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよく、2種以上を併用する場合、それらの組み合わせ及び比率は任意に選択できる。

【0056】

化合物(1b1)製造工程において、3-メルカプトプロピオン酸の使用量は、例えば、2-アミノエタントチオール塩酸塩の使用量の0.5~2倍モル量であることが好ましく、1~1.5倍モル量であることがより好ましい。

【0057】

化合物(1b1)製造工程においては、さらに酸化剤を用いて反応を行うことが好ましい。前記酸化剤としては、例えば、過酸化水素、オキシソ、過安息香酸等が挙げられる。

40

酸化剤は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよく、2種以上を併用する場合、それらの組み合わせ及び比率は任意に選択できる。ただし、通常、酸化剤は、1種を単独で用いれば十分である。

化合物(1b1)製造工程において、酸化剤の使用量は、例えば、3-メルカプトプロピオン酸の使用量の1~4倍モル量であることが好ましく、1~2倍モル量であることがより好ましい。

【0058】

化合物(1b1)製造工程においては、例えば、反応温度は、例えば、0~4℃であることが好ましく、0℃であることがより好ましい。

化合物(1b1)製造工程において、反応時間は、例えば、1~24時間であることが

50

好ましく、1～2時間であることがより好ましい。

【0059】

化合物(1b1)製造工程において、反応終了後は、公知の手法によって、必要に応じて後処理を行い、化合物(1b1)を取り出せばよい。すなわち、適宜必要に応じて、ろ過、洗浄、抽出、pH調整、脱水、濃縮等の後処理操作をいずれか単独で、又は2種以上組み合わせて行い、濃縮、結晶化、再沈殿、カラムクロマトグラフィー等により、化合物(1b)を取り出せばよい。また、取り出した化合物(1b1)は、さらに必要に応じて、結晶化、再沈殿、カラムクロマトグラフィー、抽出、溶媒による結晶の攪拌洗浄等の操作をいずれか単独で、又は2種以上組み合わせて1回以上行うことで、精製してもよい。

化合物(1b1)製造工程においては、反応終了後、化合物(1b1)を取り出さずに、次工程で用いてもよいが、目的物である化合物(1b)の収率が向上する点から、化合物(1b1)を上述の方法で取り出すことが好ましい。

10

【0060】

また、化合物(1b)製造工程においては、例えば、上記に示すように、化合物(1b1)と塩化アクリルとを、縮合反応させることにより、化合物(1b)が得られる。

【0061】

化合物(1b)製造工程においては、例えば、適当な有機溶媒、又は前記有機溶媒及び水の混合溶媒等の水性溶媒を反応溶媒として用いることが好ましい。

化合物(1b)製造工程において使用可能な有機溶媒としては、上述の化合物(1b1)製造工程で例示されたものと同様のものが挙げられる。

20

【0062】

化合物(1b)製造工程において、塩化アクリルの使用量は、例えば、化合物(1b1)の使用量の1～3倍モル量であることが好ましく、1～1.5倍モル量であることがより好ましい。

【0063】

化合物(1b)製造工程においては、さらに塩基を用いて反応を行うことが好ましい。

前記塩基としては、例えば、ピリジン、2,6-ルチジン、2,6-ビス(tert-ブチル)ピリジン、トリエチルアミン、ジメチルイソプロピルアミン、N-メチルモルホリン等の有機塩基；水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水素化ナトリウム、水素化カリウム、ナトリウムアミド等の無機塩基；リチウムジイソプロピルアミド、ブチルリチウム等の有機金属塩等が挙げられ、これらに限定されない。

30

前記塩基は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよく、2種以上を併用する場合、それらの組み合わせ及び比率は任意に選択できる。

化合物(1b)製造工程において、塩基の使用量は、例えば、化合物(1b1)の使用量の1～5倍モル量であることが好ましく、1～2倍モル量であることがより好ましい。

【0064】

化合物(1b)製造工程において、反応温度は、例えば、0～4℃であることが好ましく、0℃であることがより好ましい。

化合物(1b)製造工程において、反応時間は、例えば、1～24時間であることが好ましく、1～2時間であることがより好ましい。

40

【0065】

化合物(1b)製造工程において、反応終了後は、化合物(1b1)製造工程の場合と同様の方法で、化合物(1b)を取り出すことができ、取り出した化合物(1b)をさらに同様の方法で精製してもよい。

化合物(1b)製造工程においては、反応終了後、化合物(1b)を取り出さずに、次工程で用いてもよいが、目的物である化合物(1-1-1)の収率が向上する点から、化合物(1b)を上述の方法で取り出すことが好ましい。

【0066】

(反応条件)

化合物(1-1-1)製造工程においては、例えば、適当な有機溶媒、又は前記有機溶

50

媒及び水の混合溶媒等の水性溶媒を反応溶媒として用いることが好ましい。

化合物(1-1-1)製造工程において使用可能な有機溶媒としては、上述の化合物(1b1)製造工程で例示されたものと同様のものが挙げられる。

前記溶媒は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよく、2種以上を併用する場合、それらの組み合わせ及び比率は任意に選択できる。

【0067】

化合物(1-1-1)製造工程において、化合物(1b)の使用量は、例えば、化合物(1a)の使用量の4～16倍モル量であることが好ましく、5～7倍モル量であることがより好ましい。

【0068】

化合物(1-1-1)製造工程においては、さらに縮合剤を用いて反応を行うことが好ましい。前記縮合剤としては、例えば、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、WSCD(水溶性カルボジイミド)等のカルボジイミド；2-クロロ-4,6-ジメトキシトリアジン(CDMT)、DMT-MM(4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium Chloride n-Hydrate)等が挙げられ、これらに限定されない。

前記縮合剤は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよく、2種以上を併用する場合、それらの組み合わせ及び比率は任意に選択できる。

化合物(1-1-1)製造工程において、縮合剤の使用量は、例えば、化合物(1b)の使用量の1～15倍モル量であることが好ましく、5～10倍モル量であることがより好ましい。

【0069】

化合物(1-1-1)製造工程においては、例えば、反応温度は、例えば、15～40であることが好ましく、20～30であることがより好ましい。

化合物(1-1-1)製造工程において、反応時間は、例えば、12～48時間であることが好ましく、18～24時間であることがより好ましい。

【0070】

化合物(1-1-1)製造工程において、反応終了後は、化合物(1b1)製造工程の場合と同様の方法で、化合物(1-1-1)を取り出すことができ、取り出した化合物(1-1-1)をさらに同様の方法で精製してもよい。

【0071】

化合物(1-1-1)、化合物(1a)、化合物(1b)等の各化合物は、例えば、核磁気共鳴(NMR)分光法、質量分析法(MS)、赤外分光法(IR)等、公知の手法で構造を確認できる。

【0072】

<2>化合物(1-2-1)の製造方法

化合物(1)のうち、化合物(1-2-1)は、例えば、下記一般式(1c)で表される化合物(以下、「化合物(1c)」と略記することがある。)と、化合物(1b)と、を反応させて、化合物(1-2-1)を得る工程(以下、「化合物(1-2-1)製造工程」と略記することがある。)を有する製造方法により、製造できる。

以下、各工程について、詳細に説明する。

【0073】

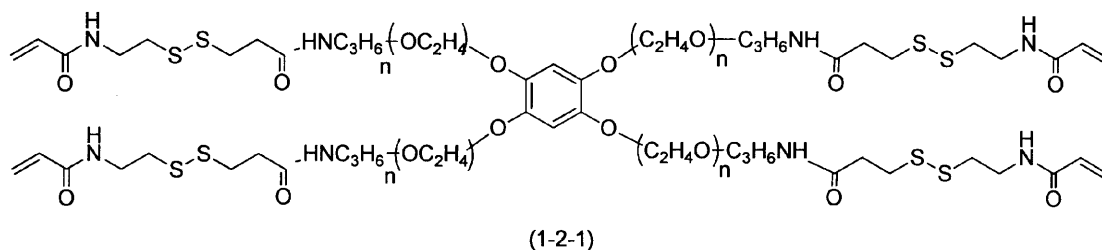
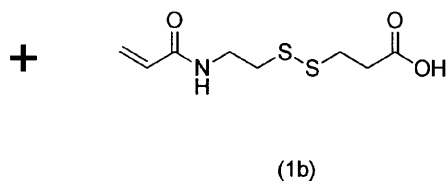
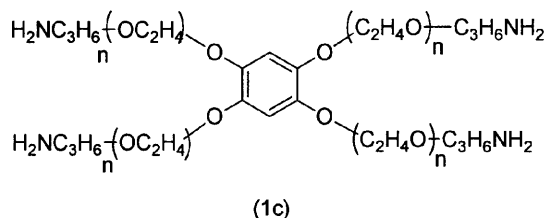
10

20

30

40

【化 8】



10

【0074】

[化合物(1-2-1)製造工程]

前記化合物(1-2-1)製造工程においては、化合物(1b)と化合物(1c)とを反応させて、化合物(1-2-1)を得る。

20

化合物(1-2-1)を得る前記反応は、公知の縮合反応である。

【0075】

(化合物(1b))

化合物(1b)は、上述の化合物(1-1-1)製造工程で用いる化合物(1b)と同じものである。

【0076】

(化合物(1c))

化合物(1c)は公知化合物(ベンゼンテトラポリエチレングリコールアミン)である。

化合物(1c)は、縮合反応の原料となる分岐鎖状のポリエチレングリコールを有する化合物である。

30

【0077】

化合物(1c)において、nはエチレングリコール残基の平均繰り返し数である。nは、5以上55以下であり、10以上50以下であることがより好ましく20以上40以下であることがさらに好ましい。

エチレングリコール残基の平均繰り返し数nを上記範囲に設定することで、ゲルの水に対する溶解度を高めることができ、製造時および使用時において扱いの容易で、状態の均一な放射線分解性ゲルを得ることができる。

化合物(1c)において、所望のエチレングリコール残基の平均繰り返し数nを有するものを適宜選択し、市販のものを購入して用いればよい。

40

【0078】

化合物(1-2-1)製造工程は、化合物(1a)に代えて化合物(1c)を用いる点以外は、上述の化合物(1-1-1)製造工程と同じ方法で行うことができる。

【0079】

<化合物(2)の製造方法>

化合物(2)は、例えば、重合性官能基Xの種類、又はエチレングリコール残基の平均繰り返し数に応じて、原料となるチオール基、重合性官能基X、及びポリエチレングリコール鎖を有する化合物と、チオール基を有する化合物とを、公知の反応を用いて連結することで製造できる。より具体的には以下のとおりである。

【0080】

50

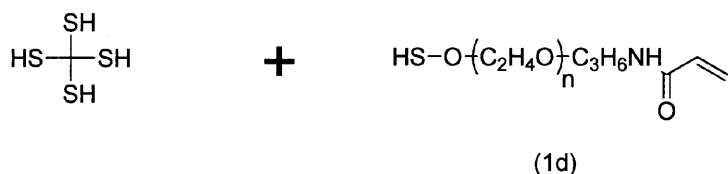
< 1 > 化合物 (2 - 1 - 1) の製造方法

化合物 (2) のうち、化合物 (2 - 1 - 1) は、例えば、メタンテトラチオールと、下記一般式 (1 d) で表される化合物 (以下、「化合物 (1 d) 」と略記することがある。) と、を反応させて、化合物 (2 - 1 - 1) を得る工程 (以下、「化合物 (2 - 1 - 1) 製造工程」と略記することがある。) を有する製造方法により、製造できる。

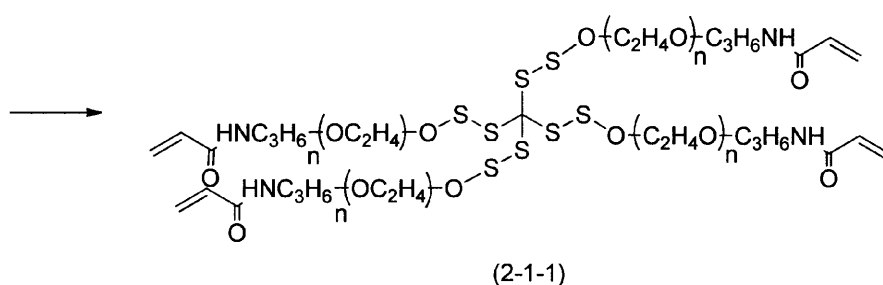
以下、各工程について、詳細に説明する。

【 0 0 8 1 】

【 化 9 】



10



20

【 0 0 8 2 】

[化合物 (2 - 1 - 1) 製造工程]

前記化合物 (2 - 1 - 1) 製造工程においては、メタンテトラチオールと化合物 (1 d) とを反応させて、化合物 (2 - 1 - 1) を得る。

化合物 (2 - 1 - 1) を得る前記反応は、公知の酸化反応である。

【 0 0 8 3 】

(化合物 (1 d))

30

化合物 (1 d) は公知化合物である。

化合物 (1 d) は、酸化反応の原料となるチオール基、重合性官能基であるビニルアミド基、及びポリエチレングリコールを有する化合物である。

【 0 0 8 4 】

n はエチレングリコール残基の平均繰り返し数である。n は、5 以上 55 以下であり、10 以上 50 以下であることがより好ましく 20 以上 40 以下であることがさらに好ましい。

エチレングリコール残基の平均繰り返し数 n を上記範囲に設定することで、ゲルの水に対する溶解度を高めることができ、製造時および使用時において扱いの容易で、状態の均一な放射線分解性ゲルを得ることができる。

40

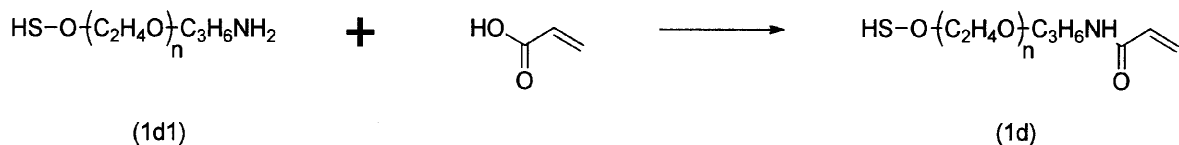
化合物 (1 d) において、所望のエチレングリコール残基の平均繰り返し数 n を有するものを適宜選択し、市販のものを購入して用いればよい。

【 0 0 8 5 】

例えば、化合物 (1 d) は、アミノ基、チオール基、及びポリエチレングリコール鎖を有する式 (1 d 1) で表される化合物 (以下、「化合物 (1 d 1) 」と略記することがある) とカルボキシビニルとを縮合反応にさせて、チオール基、ビニルアミド基、及びポリエチレングリコールを有する化合物 (1 d) を得る工程 (以下、「化合物 (1 d) 製造工程」と略記することがある) を有する製造方法により、製造できる。

【 0 0 8 6 】

【化 1 0】



【 0 0 8 7】

化合物（1 d）製造工程において使用可能な有機溶媒としては、上述の化合物（1 b 1）製造工程で例示されたものと同様のものが挙げられる。

10

前記溶媒は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよく、2種以上を併用する場合、それらの組み合わせ及び比率は任意に選択できる。

【 0 0 8 8】

化合物（1 d）製造工程において、化合物（1 d 1）の使用量は、例えば、カルボキシビニルの使用量の0.25～8倍モル量であることが好ましく、0.5～2倍モル量であることが好ましく、0.5～1倍モル量であることがより好ましい。

【 0 0 8 9】

化合物（1 d）製造工程においては、さらに縮合剤を用いて反応を行うことが好ましい。前記縮合剤としては、上述の化合物（1 - 1 - 1）製造工程で例示されたものと同様のものが挙げられる。

20

【 0 0 9 0】

化合物（1 d）製造工程においては、例えば、反応温度は、例えば、0～4℃であることが好ましく、0℃であることがより好ましい。

化合物（1 d）製造工程において、反応時間は、例えば、1～24時間であることが好ましく、1～2時間であることがより好ましい。

【 0 0 9 1】

化合物（1 d）製造工程において、反応終了後は、化合物（1 b 1）製造工程の場合と同様の方法で、化合物（1 d）を取り出すことができ、取り出した化合物（1 d）をさらに同様の方法で精製してもよい。

化合物（1 d）製造工程においては、反応終了後、化合物（1 d）を取り出さずに、次工程で用いてもよいが、目的物である化合物（2 - 1 - 1）の収率が向上する点から、化合物（1 d）を上述の方法で取り出すことが好ましい。

30

【 0 0 9 2】

（反応条件）

化合物（2 - 1 - 1）製造工程において使用可能な有機溶媒としては、上述の化合物（1 b 1）製造工程で例示されたものと同様のものが挙げられる。

前記溶媒は、1種を単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよく、2種以上を併用する場合、それらの組み合わせ及び比率は任意に選択できる。

【 0 0 9 3】

化合物（2 - 1 - 1）製造工程において、化合物（1 d）の使用量は、例えば、メタンテトラオールの使用量の4～16倍モル量であることが好ましく、5～7倍モル量であることがより好ましい。

40

【 0 0 9 4】

化合物（2 - 1 - 1）製造工程においては、さらに酸化剤を用いて反応を行うことが好ましい。前記酸化剤としては、上述の化合物（1 b 1）製造工程で例示されたものと同様のものが挙げられる。

【 0 0 9 5】

化合物（2 - 1 - 1）製造工程においては、例えば、反応温度は、例えば、15～40℃であることが好ましく、20～30℃であることがより好ましい。

化合物（2 - 1 - 1）製造工程において、反応時間は、例えば、12～48時間である

50

ことが好ましく、18～24時間であることがより好ましい。

【0096】

化合物(2-1-1)製造工程において、反応終了後は、化合物(1b1)製造工程の場合と同様の方法で、化合物(2-1-1)を取り出すことができ、取り出した化合物(2-1-1)をさらに同様の方法で精製してもよい。

【0097】

化合物(2-1-1)、化合物(1d)等の各化合物は、例えば、核磁気共鳴(NMR)分光法、質量分析法(MS)、赤外分光法(IR)等、公知の手法で構造を確認できる。

【0098】

10

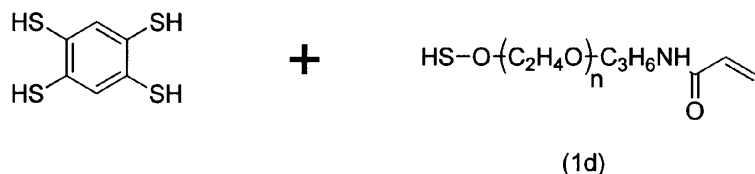
<2>化合物(2-2-1)の製造方法

化合物(2)のうち、化合物(2-2-1)は、例えば、ベンゼンテトラチオールと、化合物(1d)と、を反応させて、化合物(2-1-1)を得る工程(以下、「化合物(2-1-1)製造工程」と略記することがある。)を有する製造方法により、製造できる。

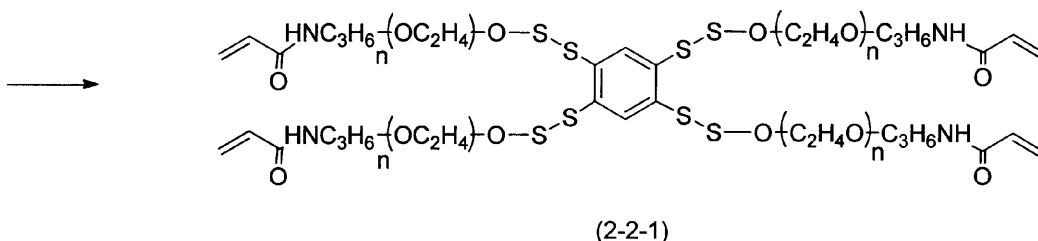
以下、各工程について、詳細に説明する。

【0099】

【化11】



20



30

【0100】

[化合物(2-2-1)製造工程]

前記化合物(2-2-1)製造工程においては、ベンゼンテトラチオールと化合物(1d)とを反応させて、化合物(2-2-1)を得る。

化合物(2-2-1)を得る前記反応は、公知の酸化反応である。

【0101】

(化合物(1d))

化合物(1d)は、上述の化合物(2-1-1)製造工程で用いる化合物(1d)と同じものである。

40

【0102】

化合物(2-2-1)製造工程は、メタンテトラチオールに代えてベンゼンテトラチオールを用いる点以外は、上述の化合物(2-1-1)製造工程と同じ方法で行うことができる。

【0103】

<<放射線分解性ゲル>>

一実施形態において、本発明は、上述の放射線分解性架橋剤を含む放射線分解性ゲルを提供する。

【0104】

50

本実施形態における放射線分解性ゲルは適度な強度を有し、放射線治療の実用線量範囲である低線量の放射線を照射することにより、所望の場所において所望のタイミングで分解させることができる。

【0105】

本実施形態の放射線分解性ゲルにおいて、放射線分解性架橋剤の他に、さらに、重合性化合物を含んでいてもよい。

前記重合性化合物としては、放射線分解性架橋剤が有する重合性官能基と重合可能な重合性官能基を有しているものであれば、特に限定されるものではなく、公知の重合性化合物の中から、適宜選択して用いることができる。さらに、本実施形態の放射線分解性ゲルを用いて生理活性物質を包含する場合、ゲル化の前後において、生理活性物質の活性に対する影響の小さいものであればよい。

なお、本明細書において、「重合性化合物」とは、重合体等の鎖状構造を有するものと、重合体の構成単位である単量体（重合性モノマー）の両方を含む。

【0106】

前記重合性化合物が有する重合性官能基は、放射線分解性架橋剤が有する重合性官能基と重合可能であればよく、具体的には、放射線分解性架橋剤が有する重合性官能基として上述の＜＜放射線分解性架橋剤＞＞の[重合性官能基X]において例示された重合性官能基の中から、適宜選択して用いることができる。また、前記重合性化合物が有する重合性官能基は、放射線分解性架橋剤が有する重合性官能基と同種の官能基であってもよく、異種の官能基であってもよい。さらに、前記重合性化合物としては、1種類の重合性化合物のみを用いてもよく、同種の重合性官能基を有する複数の重合性化合物を混合して用いてもよく、互いに共重合可能な異種類の重合性官能基を有する複数の重合性化合物を混合して用いてもよい。

【0107】

前記重合性化合物としては、例えば、アクリル酸又はその誘導体（以下、両者をまとめて単に「アクリル酸誘導体」と称することがある。）等が挙げられる。アクリル酸誘導体として、より具体的には、例えば、アクリル酸、アクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、N-アクリロイルアミノエトキシエタノール、N-アクリロイルアミノプロパノール、N-メチロールアクリルアミド、N-ビニルピロリドン、ヒドロキシエチルメタクリレート、メタクリル酸、アリルデキストリン等

【0108】

これらのアクリル酸誘導体の1種類又は2種類以上を重合性化合物とし、アクリル酸誘導体と重合可能な重合性官能基（例えば、アクリル酸残基、スチレン残基等）を有する放射線分解性架橋剤と共重合させることにより、放射線分解性ゲルを製造することができる。

【0109】

また、放射線分解性架橋剤と共重合可能な重合性化合物と、さらに、無水マレイン酸等の、それ単独では共重合不可能であるが、他の重合性官能基と共存することにより共重合を起こすような化合物とを、併用して用いてもよい。

【0110】

その他、例えば、重合性化合物として汎用されている分子中に、放射線分解性架橋剤が有する重合性官能基と重合可能な重合性官能基を導入したものをを用いることができる。例えば、分子中の水酸基等に適当な重合性官能基を適宜導入したアガロースを重合性化合物とし、放射線分解性架橋剤と共重合させることにより、放射線分解性アガロースゲルを製造することができる。また、分子中の水酸基等に適当な重合性官能基を適宜導入したケイ酸塩を重合性化合物とし、放射線分解性架橋剤と共重合させることにより、放射線分解性シリカゲルを製造することができる。

【0111】

放射線分解性ゲルの作製には、重合性官能基を導入した重合性化合物と、導入していな

10

20

30

40

50

い重合性化合物とを混合して用いてもよい。例えば、重合性官能基を導入したアガロースと、未修飾のアガロースとを混合して用いることができる。

【0112】

なお、放射線分解性アガロースゲルを作製する場合、重合性化合物として用いるアガロースは、低融点のものであるほうが好ましい。また、アガロース中への重合性官能基の導入部位は、特に限定されるものではないが、両末端の糖の水酸基にそれぞれ1個ずつ導入されたものであることが好ましい。

【0113】

本実施形態の放射線分解性ゲルにおいて、ゲル化の反応条件は、放射線分解性架橋剤中の重合性官能基と重合性化合物中の重合性官能基とを重合させる、又は放射線分解性架橋剤中の重合性官能基同士を重合させることができればよく、重合性官能基の種類、重合反応、重合性化合物の種類等を考慮して、適宜設定することができる。例えば、重合性化合物としてアクリルアミドを用いる場合には、アクリルアミドと放射線分解性架橋剤とを添加したものに、さらに過硫酸アンモニウム（APS）等の重合開始剤や、N，N，N'，N'テトラメチレンジアミド（TEMED）等の反応促進剤を添加することにより、ゲル化することができる。

10

【0114】

ゲル化反応を、揺動環境下で行うことにより、形成される放射線分解性ゲルの粒子径を小さくすることができる。例えば、ゲル化反応を行う反応容器を、ボルテックスミキサー等の振とう機の上に設置し、ゲル化反応を進めることにより、放射線分解性ゲルを、粒子径が1 μm未満のナノ粒子に形成することができる。また、ゲル化反応の反応温度を低くした場合、例えば4℃で行った場合には、室温で行った場合よりも、得られる放射線分解性ゲルの粒子径が揃う傾向がある。その他、重合性化合物としてアクリルアミドを用いる場合であって、ゲル化反応にAPS等の重合開始剤を用いる場合には、反応溶液に添加する重合開始剤の濃度を調整することにより、得られるナノ粒子の平均粒子径を調整することもできる。

20

【0115】

本実施形態の放射線分解性ゲルにおいては、放射線分解性を損なわない程度において、放射線分解性架橋剤（非放射線分解性架橋剤）を併用してもよい。また、本実施形態の放射線分解性ゲルにおいては、放射線分解性を損なわない程度において、放射線分解性架橋剤により重合性化合物が架橋されたゲルと、放射線分解性架橋剤により架橋される重合性化合物とは異なる種類の重合性化合物が非放射線分解性架橋剤により架橋されたゲルとを混合したゲルであってもよい。

30

【0116】

本実施形態の放射線分解性ゲルは、中に所望の物質を包含させることができる。包含する物質の分子量は、5 kDa以上160 kDa以下であることが好ましく、10 kDa以上80 kDa以下であることがより好ましく、25 kDa以上35 kDa以下であることがさらに好ましい。

包含する物質としては、親水性であれば、特別な限定はなく、用途に応じて適宜選択することができる。包含する物質として、より具体的には、例えば、生理活性物質、治療薬剤、診断薬剤（例えば、造影剤等）、蛍光物質等が挙げられる。

40

【0117】

本明細書において、「生理活性物質」とは、生体内において、何らかの活性や機能を有している物質を意味する。生理活性物質としては、例えば、抗原、抗体、ホルモン、酵素、核酸等が挙げられる。

【0118】

治療薬剤としては、例えば、抗ガン剤等が挙げられる。抗ガン剤として、より具体的には、例えば、イホスファミド、シクロフォスファミド、ダカルバジン、テモゾロミド、ニムスチン、ブスルファン、メルファラン、チオテパ、ラニムスチン、プロカルバジン、ベンダムスチン等のアルキル化剤；オキサリプラチン、カルボプラチン、シスプラチン、ネ

50

ダブラチン等の白金製剤；イリノテカン、ノギテカン、ドキソルビシン、エトポシド、レボフロキサシン、シプロフロキサシン等のトポイソメラーゼ阻害剤等が挙げられ、これらに限定されない。

【0119】

診断薬剤としては、例えば、金属イオン等が挙げられる。金属イオンとして、より具体的には、例えば、テクネチウムイオン、銅イオン、インジウムイオン、タリウムイオン、ガリウムイオン、ヒ素イオン、レニウムイオン、ホルミウムイオン、イットリウムイオン、サマリウムイオン、セレンイオン、ストロンチウムイオン、ガドリニウムイオン、ビスマスイオン、鉄イオン、マンガンイオン、ルテチウムイオン、コバルトイオン、白金イオン、カルシウムイオン、ロジウムイオン等が挙げられ、これらに限定されない。これらの金属イオンは、放射性でもよく、非放射性でもよく、非放射性の金属イオンであることが好ましい。

10

【0120】

蛍光物質としては、例えば、ナイルブルー、ナイルレッド、シアニン色素（例えばCy3、Cy5等）、ローダミン6G試薬、その他公知の蛍光色素（例えば、GF P、FITC（Fluorescein）、TAMRA等）等が挙げられ、これらに限定されない。

【0121】

本実施形態の放射線分解性ゲルにおいて、所望の物質を包含させる方法としては、例えば、所望の物質を含む水性媒体中で、重合性化合物と放射線分解性架橋剤とを共重合させてゲル化することにより、若しくは放射線分解性架橋剤のみを重合させてゲル化することにより、放射線分解性ゲルに所望の物質を包含させる方法等が挙げられる。

20

水性媒体としては、所望の物質の活性を阻害しないものであれば、特別な限定はない。水性媒体としては、例えば、緩衝液等が挙げられる。前記緩衝液として、当該分野において公知のものから適宜選択でき、例えば、リン酸緩衝液、トリス塩酸緩衝液、クエン酸緩衝液、炭酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、コハク酸緩衝液、酢酸緩衝液、HEPES、Hanks緩衝液等が挙げられ、これらに限定されない。前記緩衝液は、必要に応じて、NaCl、界面活性剤（例えば、Tween 20、Triton X-100等）、又は防腐剤（例えば、アジ化ナトリウム等）を含んでいてもよい。

水性媒体に添加する重合性化合物や放射線分解性架橋剤の量は、ゲル化が可能であれば特に限定されるものではなく、重合性化合物や放射線分解性架橋剤の種類を考慮して、適宜決定することができる。

30

本実施形態の放射線分解性ゲルにおいては、得られる放射線分解性ゲルの網目の孔径の平均値が、包含する所望の物質の大きさに対して適した大きさとなるように、放射線分解性架橋剤のエチレングリコール残基の平均繰り返し数、重合性化合物の種類等を考慮して、重合性化合物及び放射線分解性架橋剤の添加量比を調整すればよい。

なお、網目の大きさが所望の物質の大きさに適しているとは、包含された所望の物質が網目を自由に通過できない大きさであって、ゲルのネットワークを崩壊させる前に、ゲルから所望の物質が放出されてしまうことを効果的に抑制できる大きさであることを意味する。

【0122】

40

また、本実施形態の放射線分解性ゲルにおいて、重合性化合物及び放射線分解性架橋剤、若しくは放射線分解性架橋剤のみと、所望の物質を重合性化合物、又は放射線分解性架橋剤の末端に任意の連結基を介して結合したものと、を共重合、若しくは重合させてゲル化することにより、放射線分解性ゲルに所望の物質を包含させてもよい。

【0123】

<使用用途>

本実施形態の放射線分解性ゲルは、例えば、生理活性物質、治療薬剤等を包含することにより、DDS（ドラッグデリバリーシステム）におけるキャリアとして活用することができる。本実施形態の放射線分解性ゲルは、特に、外科手術が困難であり、身体の深部や骨の近傍にできた腫瘍（例えば、頭頸部ガン等）に用いられる治療薬剤のキャリアとして

50

好適である。

また、例えば、本実施形態の放射線分解性ゲルを用いて、抗ガン剤を包含させた場合、抗ガン剤を包含させた前記放射線分解性ゲルを、ガンの患部に送達させることができる。さらに、放射線を照射することにより、放射線治療と抗ガン剤による化学的治療とを併用することができ、効果的にガンを治療することができる。

本実施形態の放射線分解性ゲルは、その他包含する物質を適宜選択することで、放射線増感剤、造影剤のキャリア、又は化粧用のナノ粒子としても活用することができる。

本実施形態の放射線分解性ゲルは、例えば、蛍光物質を包含することにより、放射線感受性パッチしても活用することができる。本明細書において、「放射線感受性パッチ」とは、放射線を浴びた場合に壊れて包含された着色成分が放出され、放射線による被曝を感知するためのものを意味する。本実施形態の放射線分解性ゲルを用いた放射線感受性パッチは、低線量の放射線であっても分解され、着色成分が放出されるため、放射線被曝の指標として有効である。

【0124】

また、本実施形態の放射線分解性ゲルは、架橋剤として放射線分解性架橋剤を用い、かつ包含させる所望の存在下でゲル化する以外は、汎用されているゲル化方法により製造することができるため、様々な容器中に製造することが可能である。このため、例えば、本実施形態の放射線分解性ゲルにおいて、酵素を包含する場合、酵素を包含した放射線分解性ゲルを、96ウェルマイクロアッセイプレートのウェルの底に作製し、当該ゲルの上に基質を含む溶液を添加し、その後、低線量の放射線を照射することにより、多くの検体に対して迅速に酵素処理を行うことができる。

このため、本実施形態の放射線分解性ゲルは、多検体を処理するようないわゆるハイスループットなアッセイ系にも適用することができる。

【0125】

<<生理活性物質包含ゲル>>

一実施形態において、本発明は、生理活性物質が、上述の放射性分解性ゲルに包含された生理活性物質包含ゲルを提供する。

【0126】

本実施形態の生理活性物質包含ゲルは、生理活性物質がゲルに包含させて固定化されているため、変性や分解等を効果的に抑制することができ、安定して長期間保存（非活性の状態で保存すること）が可能である。このため、本実施形態の生理活性物質包含ゲルは、酵素チップ、核酸チップや分子標的薬の探索アッセイ法等の様々な用途に適用可能なバイオ材料として利用できることが期待できる。さらに、放射線治療の実用線量範囲である低線量の放射線を照射することにより、簡便かつ精密に、生理活性物質の活性を発現させることができる。

【0127】

本実施形態の生理活性物質包含ゲルは、上述の放射性分解性ゲル内に、所望の生理活性物質が安定的に包含されている。

前記生理活性物質としては、上述の<<放射線分解性ゲル>>で例示されたものと同様のもの等が挙げられる。

【0128】

本実施形態の生理活性物質包含ゲルの平均粒径は、包含する生理活性物質の大きさにより異なるが、1 μm 未満のナノ粒子であることが好ましく、100 nm以上300 nm以下であることがより好ましく、150 nm以上200 nm以下であることがさらに好ましい。本実施形態の生理活性物質包含ゲルは、1 μm 未満のナノ粒子であることにより、マイクロインジェクション等の特段の導入操作を行うことなく、エンドサイトーシス等の膜輸送を介して容易に細胞内に取り込ませることができる。

【0129】

本実施形態の生理活性物質包含ゲルを *in vitro* で用いる場合には、架橋剤として放射線分解性架橋剤のみを用いた放射線分解性ゲルのみから生理活性物質を包含させる

ことが好ましい。架橋剤として光開裂性架橋剤のみを用いたゲルの場合には、10 Gy 程度の低線量の放射線を照射することにより、照射領域中のゲルのネットワークを完全に崩壊させることができる。このため、非常に効率よく生理活性物質を活性化したり、ゲルから放出することができる。

【0130】

<<生理活性物質の活性制御方法>>

一実施形態において、生理活性物質を、上述の放射性分解性ゲルに包含させ、生理活性物質包含ゲルを作製する生理活性物質包含ゲル作製工程と、前記生理活性物質包含ゲル作製工程後、前記生理活性物質包含ゲルに放射線を照射し、前記生理活性物質を活性化させる活性化工程と、を備える生理活性物質の活性制御方法を提供する。

10

【0131】

本実施形態の活性制御方法によれば、外部刺激として低線量の放射線を利用することにより、生理活性物質の活性の発現を時期的及び空間的に制御することができる。特に、本実施形態の活性制御方法は、生理活性物質に直接修飾等を行う必要がないため、詳細な条件検討等を要することなく、様々な生理活性物質に対して容易に適用することが可能である。

【0132】

<生理活性物質包含ゲル作製工程>

まず、生理活性物質を含む水性媒体中で、重合性化合物と放射線分解性架橋剤とを共重合させてゲル化することにより、若しくは放射線分解性架橋剤のみを重合させてゲル化することにより、放射線分解性ゲルに生理活性物質を包含させ、生理活性物質包含ゲルを作製する。

20

【0133】

使用する水性媒体としては、上述の<<放射線分解性>>において例示されたものと同様のものが挙げられる。

水性媒体に添加する重合性化合物や放射線分解性架橋剤の量は、ゲル化が可能であれば特に限定されるものではなく、重合性化合物や放射線分解性架橋剤の種類を考慮して、適宜決定することができる。

本実施形態の活性制御方法においては、得られる放射線分解性ゲルの網目の孔径の平均値が、包含する生理活性物質の大きさに対して適した大きさとなるように、放射線分解性架橋剤のエチレングリコール残基の平均繰り返し数、重合性化合物の種類等を考慮して、重合性化合物及び放射線分解性架橋剤の添加量比を調整すればよい。

30

【0134】

また、本実施形態の活性制御方法において、重合性化合物及び放射線分解性架橋剤、若しくは放射線分解性架橋剤のみと、所望の物質を重合性化合物、又は放射線分解性架橋剤の末端に任意の連結基を介して結合したものと、を共重合、若しくは重合させてゲル化することにより、放射線分解性ゲルに生理活性物質を包含させてもよい。

【0135】

<活性化工程>

続いて、得られた生理活性物質包含ゲルにおいて、放射線を照射し、生理活性物質を活性化させる。本実施形態の生理活性物質包含ゲルにおける分解機構は、図1及び上述の<<放射線分解性架橋剤>>の[ジスルフィド結合]において示したとおりである。

40

【0136】

放射線分解性ゲル中の放射線分解性架橋基が開裂する程度は、当該ゲルへ照射する放射線の線量に依存する。放射線分解性ゲルへの放射線の照射線量が多いほど、照射領域のゲルがより多く崩壊するため、活性化される生理活性物質の量も多くなる。したがって、照射する放射線の強度や照射時間を調整して放射線の照射量を制御することにより、活性化する生理活性物質の量を制御することができる。

【0137】

近年の放射線技術の発展により、放射線の照射の時期、時間、領域、及び量は、厳密に

50

制御することが可能である。本実施形態の活性制御方法は、生理活性物質の活性の制御のための外部刺激として放射線を用いているため、生理活性物質の活性の発現制御を精密に行うことができ、必要な時に必要な場所で、必要な量（程度）の生理活性物質の活性を発現させることができる。

【0138】

本実施形態の活性制御方法において、照射される放射線の線量は、放射線治療の実用線量範囲である10 Gy以下であって、1 Gy以上10 Gy以下であることがより好ましく、1 Gy以上8 Gy以下であることがさらに好ましい。放射線の線量の範囲が下限値以上であることにより、放射線分解性ゲルを所望の場所及び所望のタイミングで分解させることができる。また、放射線の線量の範囲が上限値以下であることにより、過剰な放射線の照射による生体への負担を軽減することができ、効率よく生理活性物質を活性化したり、ゲルから放出することができる。

10

【0139】

本実施形態の活性制御方法は、生理活性物質は放射線分解性ゲルで包含されているため、物性の異なる様々な生理活性物質に対して、機能のon/offを放射線の照射によって制御することができる、汎用性と操作性に優れた実用性の高い方法である。

【0140】

<<生理活性物質包含ゲルの活性化方法>>

一実施形態において、本発明は、上述の生理活性物質包含ゲルと、細胞とを接触させ、前記生理活性物質包含ゲルを細胞内に導入する導入工程と、前記導入工程後、前記生理活性物質包含ゲルが導入された細胞に放射線を照射し、前記放射性分解性ゲルから生理活性物質を放出させ、前記生理活性物質を活性化させる活性化工程と、を備える生理活性物質包含ゲルの活性化方法を提供する。

20

【0141】

本実施形態の活性化方法によれば、細胞内において、時期的、空間的及び量的制御下で、生理活性物質を活性化させることができる。

【0142】

<導入工程>

まず、上述の生理活性物質包含ゲルと、細胞とを接触させる。

本実施形態の活性化方法をin vitroの系で用いる場合には、上述の生理活性物質包含ゲルと、細胞とを、水性媒体において混合し、用いればよい。水性媒体としては、細胞に対する毒性がなく、増殖性や機能を損なわないものであれば特に限定されるものではなく、例えば、水、緩衝液、細胞の培養培地等が挙げられる。

30

前記緩衝液としては、上述の<<放射線分解性ゲル>>において例示されたものと同様のものが挙げられる。

前記培地としては、細胞の生存増殖に必要な成分（無機塩、炭水化物、ホルモン、必須アミノ酸、非必須アミノ酸、ビタミン）等を含む基本培地であればよく、細胞の種類により適宜選択することができる。例えば、DMEM、Minimum Essential Medium (MEM)、RPMI-1640、Basal Medium Eagle (BME)、Dulbecco's Modified Eagle's Medium: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F-12)、Glasgow Minimum Essential Medium (Glasgow MEM) 等が挙げられ、これらに限定されない。

40

【0143】

本実施形態の活性化方法において、使用される細胞としては、生理活性物質を導入したい細胞であれば、特別な限定はない。細胞としては、例えば、生殖細胞（精子、卵子等）、生体を構成する体細胞、幹細胞、前駆細胞、生体から分離されたガン細胞、生体から分離され不死化能を獲得して体外で安定して維持される細胞（細胞株）、生体から分離され人為的に遺伝子改変された細胞、生体から分離され人為的に核が交換された細胞等が挙げられ、これらに限定されない。

50

【 0 1 4 4 】

生体を構成する体細胞としては、例えば、皮膚、腎臓、脾臓、副腎、肝臓、肺、卵巣、膵臓、子宮、胃、結腸、小腸、大腸、膀胱、前立腺、精巣、胸腺、筋肉、結合組織、骨、軟骨、血管組織、血液、心臓、眼、脳、神経組織等の任意の組織から採取される細胞等が挙げられ、これらに限定されない。体細胞として、より具体的には、例えば、線維芽細胞、骨髄細胞、免疫細胞（例えば、Bリンパ球、Tリンパ球、好中球、マクロファージ、単球、等）、赤血球、血小板、骨細胞、骨髄細胞、周皮細胞、樹状細胞、ケラチノサイト、脂肪細胞、間葉細胞、上皮細胞、表皮細胞、内皮細胞、血管内皮細胞、リンパ管内皮細胞、肝細胞、膵島細胞（例えば、細胞、細胞、細胞、細胞、PP細胞等）、軟骨細胞、卵丘細胞、グリア細胞、神経細胞（ニューロン）、オリゴデンドロサイト、マイクログリア、星状膠細胞、心筋細胞、食道細胞、筋肉細胞（例えば、平滑筋細胞、骨格筋細胞等）、メラニン細胞、単核細胞等が挙げられ、これらに限定されない。

10

【 0 1 4 5 】

幹細胞とは、自分自身を複製する能力と他の複数系統の細胞に分化する能力を兼ね備えた細胞である。幹細胞としては、例えば、胚性幹細胞（ES細胞）、胚性腫瘍細胞、胚性生殖幹細胞、人工多能性幹細胞（iPS細胞）、神経幹細胞、造血幹細胞、間葉系幹細胞、肝幹細胞、膵幹細胞、筋幹細胞、生殖幹細胞、腸幹細胞、ガン幹細胞、毛包幹細胞等が挙げられ、これらに限定されない。

【 0 1 4 6 】

前駆細胞とは、前記幹細胞から特定の体細胞又は生殖細胞に分化する途中の段階にある細胞である。

20

【 0 1 4 7 】

ガン細胞とは、体細胞から派生して無限の増殖能を獲得した細胞である。ガン細胞の由来となるガンとしては、例えば、乳ガン（例えば、浸潤性乳管ガン、非浸潤性乳管ガン、炎症性乳ガン等）、前立腺ガン（例えば、ホルモン依存性前立腺ガン、ホルモン非依存性前立腺ガン等）、膵ガン（例えば、膵管ガン等）、胃ガン（例えば、乳頭腺ガン、粘液性腺ガン、腺扁平上皮ガン等）、肺ガン（例えば、非小細胞肺ガン、小細胞肺ガン、悪性中皮腫等）、結腸ガン（例えば、消化管間質腫瘍等）、直腸ガン（例えば、消化管間質腫瘍等）、大腸ガン（例えば、家族性大腸ガン、遺伝性非ポリポーシス大腸ガン、消化管間質腫瘍等）、小腸ガン（例えば、非ホジキンリンパ腫、消化管間質腫瘍等）、食道ガン、十二指腸ガン、舌ガン、咽頭ガン（例えば、上咽頭ガン、中咽頭ガン、下咽頭ガン等）、頭頸部ガン、唾液腺ガン、脳腫瘍（例えば、松果体星細胞腫瘍、毛様細胞性星細胞腫、びまん性星細胞腫、退形成性星細胞腫等）、神経鞘腫、肝臓ガン（例えば、原発性肝ガン、肝外胆管ガン等）、腎臓ガン（例えば、腎細胞ガン、腎盂と尿管の移行上皮ガン等）、胆嚢ガン、胆管ガン、膵臓ガン、肝ガン、子宮内膜ガン、子宮頸ガン、卵巣ガン（例、上皮性卵巣ガン、性腺外胚細胞腫瘍、卵巣性胚細胞腫瘍、卵巣低悪性度腫瘍等）、膀胱ガン、尿道ガン、皮膚ガン（例えば、眼内（眼）黒色腫、メルケル細胞ガン等）、血管腫、悪性リンパ腫（例えば、細網肉腫、リンパ肉腫、ホジキン病等）、メラノーマ（悪性黒色腫）、甲状腺ガン（例えば、甲状腺髄様ガン等）、副甲状腺ガン、鼻腔ガン、副鼻腔ガン、骨腫瘍（例えば、骨肉腫、ユーイング腫瘍、子宮肉腫、軟部組織肉腫等）、転移性髄芽腫、血管線維腫、隆起性皮膚線維肉腫、網膜肉腫、陰茎癌、精巣腫瘍、小児固形ガン（例えば、ウィルムス腫瘍、小児腎腫瘍等）、カボジ肉腫、AIDSに起因するカボジ肉腫、上顎洞腫瘍、線維性組織球腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、慢性骨髄増殖性疾患、白血病（例えば、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病等）等が挙げられ、これらに限定されない。

30

40

【 0 1 4 8 】

細胞株とは、生体外での人為的な操作により無限の増殖能を獲得した細胞である。細胞株としては、例えば、HCT116、Hu h7、HEK293（ヒト胎児腎細胞）、HeLa（ヒト子宮頸ガン細胞株）、HepG2（ヒト肝ガン細胞株）、UT7/TPO（ヒト白血病細胞株）、CHO（チャイニーズハムスター卵巣細胞株）、MDCK、MDBK

50

、BHK、C-33A、HT-29、AE-1、3D9、Ns0/1、Jurkat、NIH3T3、PC12、S2、Sf9、Sf21、High Five、Vero等が挙げられ、これらに限定されない。

【0149】

また、使用する細胞が由来する生物種は特に限定されるものではなく、例えば、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ウサギ、ブタ、ウシ、マウス、ラット等の動物に由来する細胞を用いることができる。

【0150】

本実施形態の活性化方法において、生理活性物質包含ゲル内の生理活性物質としては、上述の<<放射線分解性ゲル>>で例示されたものと同様のものが挙げられる。

10

【0151】

本実施形態の活性化方法において、使用する生理活性物質包含ゲルの平均粒径は、包含する生理活性物質の大きさにより異なるが、1 μ m未満のナノ粒子であることが好ましく、100nm以上300nm以下であることがより好ましく、150nm以上200nm以下であることがさらに好ましい。前記生理活性物質包含ゲルは、1 μ m未満のナノ粒子であることにより、マイクロインジェクション等の特段の導入操作を行うことなく、エンドサイトーシス等の膜輸送を介して容易に細胞内に取り込ませることができる。

【0152】

導入させる際の温度としては、使用する細胞の培養に適した温度であればよく、25以上40以下が好ましく、30以上39以下がより好ましく、35以上39以下がさらに好ましい。導入環境は、生理活性物質包含ゲル及び細胞の維持に直接的に影響することなく、かつ、使用する細胞の培養に適した環境を任意の期間保持できるものであれば、任意に設定してもよい。また、必要に応じて導入環境を著しく変化させなければ還流等の流体力学的な付加を加えてもよい。また、導入環境は、例えば、約5%のCO₂条件下であってもよい。

20

【0153】

導入時間としては、生理活性物質の種類や生理活性物質包含ゲルの量等によって任意に設定すればよい。導入時間としては、例えば、10分以上であることが好ましく、10分以上12時間以下であることがより好ましく、20分以上2時間以下であることがさらに好ましい。

30

【0154】

本実施形態の活性化方法を*in vivo*の系で用いる場合には、被検動物の生体内に生理活性物質包含ゲルを投与することにより、被検動物の細胞と生理活性物質包含ゲルとを接触させればよい。

【0155】

被検動物としては、例えば、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ウサギ、ブタ、ウシ、マウス、ラット等の哺乳動物が挙げられ、これらに限定されない。

【0156】

生理活性物質包含ゲルの投与方法は、例えば、動脈内注射、静脈内注射、皮下注射等のほか、鼻腔内的、経気管支的、筋内的、経皮的、又は経口的に当業者に公知の方法により行い得る。

40

生理活性物質包含ゲルの投与量は、被検動物の体重や年齢、投与方法、包含された生理活性物質の種類などにより変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。

【0157】

生理活性物質包含ゲルを注射剤として投与する場合、前記生理活性物質包含ゲルを含む注射剤は、非水性の希釈剤（例えば、ポリエチレングリコール、オリーブ油等の植物油、エタノール等のアルコール類等）、懸濁剤、又は乳濁剤として調製することもできる。このような注射剤の無菌化は、フィルターによる濾過滅菌、殺菌剤等の配合により行うことができる。注射剤は、用事調製の形態として製造することができる。即ち、凍結乾燥法等

50

によって、無菌の固体組成物とし、使用前に注射用蒸留水又は他の溶媒に溶解して使用することができる。

【 0 1 5 8 】

また、生理活性物質包含ゲルは、薬学的に許容できる担体及び希釈剤と共に被検動物へ投与してもよい。

本明細書において、「薬学的に許容できる」とは、被検動物に適切に投与された場合に、概して、副作用を起こさない程度を意味する。

前記担体及び希釈剤としては、例えば、賦形剤、希釈剤、増量剤、崩壊剤、安定剤、保存剤、緩衝剤、乳化剤、芳香剤、着色剤、甘味料、粘稠剤、矯味剤、溶解補助剤、添加剤等が挙げられる。これら担体及び希釈剤の１種以上を用いることにより、注射剤、液剤、カプセル剤、懸濁剤、乳剤、又はシロップ剤等の形態の生理活性物質包含ゲルを含む組成物を調製することができる。

10

【 0 1 5 9 】

< 活性化工程 >

続いて、前記導入工程後、前記生理活性物質包含ゲルが導入された細胞に放射線を照射する。放射線の照射により、前記放射性分解性ゲルから生理活性物質が放出され、前記生理活性物質がゲルに包含される前の生理活性物質と同様に活性を有し、機能することができる。

【 0 1 6 0 】

本実施形態の活性化方法において、照射される放射線の線量は、放射線治療の実用線量範囲である 10 Gy 以下であって、1 Gy 以上 10 Gy 以下であることがより好ましく、1 Gy 以上 8 Gy 以下であることがさらに好ましい。放射線の線量の範囲が下限値以上であることにより、放射線分解性ゲルを所望の場所及び所望のタイミングで分解させることができる。また、放射線の線量の範囲が上限値以下であることにより、特に、本実施形態の活性化方法を *in vivo* の系で用いる場合において、過剰な放射線の照射による生体への負担を軽減することができ、効率よく生理活性物質を活性化したり、ゲルから放出することができる。

20

【 実施例 】

【 0 1 6 1 】

以下、実施例を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

30

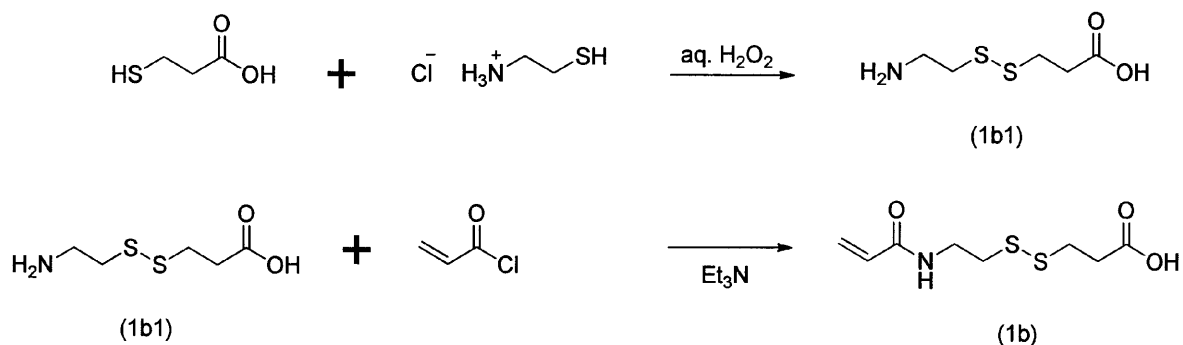
【 0 1 6 2 】

[製造例 1] 放射性分解性架橋剤 (化合物 (1 - 1 - 1)) の合成

以下に示す経路で、まず化合物 (1 b) を製造し、続いて、化合物 (1 a) 及び化合物 (1 b) を用いて、化合物 (1 - 1 - 1) を製造した。

【 0 1 6 3 】

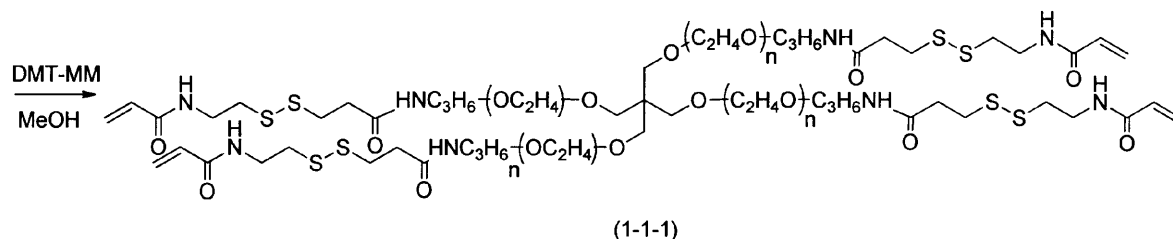
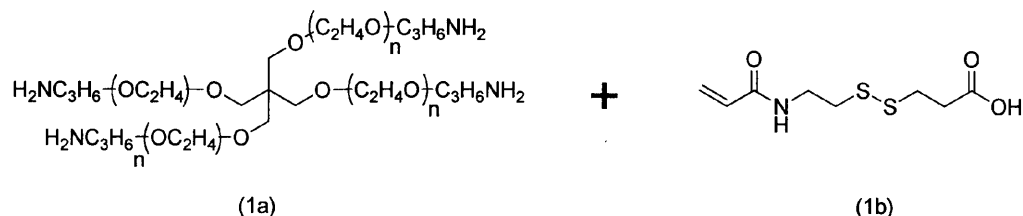
【 化 1 2 】



40

【 0 1 6 4 】

【化 1 3】



10

【0165】

まず、3-メルカプトプロピオン酸(11.3g、100mmol)(東京化学工業社製)と2-アミノエタンチオール塩酸塩(8.7mL、100mmol)(東京化学工業社製)と水溶液に加え、攪拌しながら溶解した。続いて、酸化剤として、16%過酸化水素溶液(和光社製)を加えて、0℃で1時間反応させて、化合物(1b1)(3-(2-アミノエチル)ジスルファニル)プロピオン酸)を得た。続いて、得られた化合物(1b1)を精製後、過剰量のトリエチルアミン(和光社製)存在下において、塩化アクリル(10.6mL、130mmol)(和光社製)を加え、0℃で1時間反応させた。pH調整、液液分配、及び再結晶化により精製し、化合物(1b)を得た(収量3.55g、収率15.1%)。

20

【0166】

得られた化合物(1b-1)の¹H NMRによる分析結果を以下に示す。

¹H NMR (CDCl₃): δ 6.28 (dd, C(=O)C[H]=CH₂), δ 6.10, 5.70 (d, d, C(=O)CH=C[H]₂), δ 3.69 (t, NHC[H]₂CH₂SS), δ 3.01 (t, SSC[H]₂CH₂COOH), δ 2.96 (t, NHCH₂C[H]₂SS), δ 2.77 (t, SSCH₂C[H]₂COOH).

30

【0167】

続いて、得られた化合物(1b)(132.3mg、563μmol)をメタノール(和光社製)に攪拌しながら溶解した。続いて、化合物(1a)(テトラポリエチレングリコールアミン、tetra-PEG-amine)(500mg、94μmol、SUNBRIGHT PET-050PA、NOF社製、分子量5328g/mol)を加え、攪拌しながら溶解した。続いて、縮合剤として、DMT-MMを加え、攪拌せずに合成を開始し、室温で12時間反応させた。続いて、反応溶液を氷冷下でジエチルエーテル(和光社製)を用いて抽出し、ろ過した。続いて、ろ過により回収した化合物を、ジエチルエーテル(和光社製)を用いて洗浄し、水に溶解した。続いて、得られた水溶液を透析(SpectraPor6, CO 1000g/mol)し、凍結乾燥することにより、化合物(1-1-1)(以下、「PEG-SS-Ac」と称することがある。)を得た(収量237.0mg、収率40.8%)。

40

【0168】

得られた化合物(1-1-1)の¹H NMRによる分析結果を以下に示す。

¹H NMR (CD₃OD): δ 6.25 (dd, C(=O)C[H]=CH₂), δ 6.20, 5.62 (d, d, C(=O)CH=C[H]₂), δ 3.5 (br, NHC[H]₂CH₂SS), δ 3.5 (br, NHCH₂CH₂C[H]₂O), δ 3.5 (br, [C[H]₂C[H]₂O]_n, n=28), δ 3.3 (s, OC[H]₂C), δ 3.2 (m, NHC[H]₂CH₂CH₂O), δ 2.96 (t, SSC[H]₂C[H]₂COO), δ 2.85 (m, NHCH₂C[H]₂SS), δ 2.60 (t, SSCH₂C[H]₂COO), δ 1.7 (m, NHCH₂C[H]₂CH₂O).

50

【0169】

[実施例1]

(1) ナイルブルー包含ゲルの作製

製造例1で作製した16mMの化合物(1-1-1)(PEG-SS-Ac)5 μ Lと、3Mのアクリルアミド(和光社製)200 μ Lと、2mg/mLのナイルブルー塩化物溶液(Sigma-Aldrich社製)とをチューブ内に加え、5秒撹拌した。続いて、0.1Mのアンモニウム過硫酸塩(APS)(和光社製)25 μ L及び0.1MのTEMED(N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine)(和光社製)25 μ Lを加え、撹拌せずに室温でゲル化を誘導した。ゲル化後、得られたゲルを、水を用いて、3回洗浄し、ナイルブルー包含ゲル(以下、「SS gel」と称することがある。)を作製した。

10

比較例として、製造例1で作製した化合物(1-1-1)(PEG-SS-Ac)の代わりに、化合物(1a)と塩化アクリルとを縮合させて製造した非放射線分解性架橋剤(以下、「PEG-Ac」と称することがある。)を用いて、ナイルブルー包含ゲル(以下、「PEG gel」と称することがある。)を作製した。

【0170】

(2) 放射線(線)の照射

続いて、(1)で作製したSS gel及びPEG gelに、Model Gammator M(Radiation Machinery社製)を用いて、線を8Gy/分の出力で、合計10Gy照射した。

20

【0171】

(3) ナイルブルーの測定

線照射後、各ゲルに水を1,050 μ Lずつ加え、15分間振盪撹拌した。続いて、撹拌後の上清を各200 μ Lずつ採取し、96ウェルプレートに移した。続いて、マルチプレートリーダー(Infinite M200PRO、TECAN社製)を用いて、波長638nmにおける蛍光を測定し、検量線を用いて定量化した。結果を図2に示す。また、コントロールとして、SS gel及びPEG gelにおいて、それぞれ線を照射前の蛍光も測定した。

【0172】

図2から、線照射後のPEG gelでは、線照射前のSS gelでのナイルブルーの検出量とほぼ同量であり、つまり、ナイルブルーがほとんど検出されなかった(0.04mg/mL未満)。よって、PEG gelでは、放射線分解性を有さないため、線の照射により、ゲルが分解されず、ナイルブルーがゲルから放出されていなかったと推察された。

30

一方、線照射後のSS gelでは、0.1mg/mLのナイルブルーが検出された。よって、SS gelでは、放射線分解性を有するため、線の照射により、ゲルが分解されて、ナイルブルーが放出されたと推察された。

【0173】

[実施例2]

(1) トリプシン包含ゲルの作製

製造例1で作製した16mMの化合物(1-1-1)(PEG-SS-Ac)5 μ Lと、16mMのPEG-Ac150 μ Lと、14mg/mLのトリプシン溶液(Sigma-Aldrich社製)とをチューブ内に加え、5秒撹拌した。続いて、0.1Mのアンモニウム過硫酸塩(APS)(和光社製)50 μ L及び0.1MのTEMED(N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine)(和光社製)50 μ Lを加え、室温でゲル化を誘導した。続いて、20分間ボルテックスにかけた。続いて、得られたゲルを、水を用いて、3回洗浄した。続いて、Vivaspin 6-30Kを用いてろ過し、トリプシン包含ゲル(平均粒径180nm)を作製した。

40

【0174】

(2) 放射線(線)の照射

50

続いて、(1)で作製したトリブシン包含ゲルに、Model Gammator M (Radiation Machinery社製)を用いて、線を8 Gy / 分の出力で、合計10 Gy照射した。

また、生体における線照射によるトリブシンの放出効率を評価するために、ブタ組織を使用して、ex vivoモデル系を作製した。具体的には、ポリスチレン製のコンカルチューブを、2 cmの厚さのブタ組織で覆った。続いて、前記コンカルチューブにトリブシン包含ゲル溶液を含む遠心管を挿入したものを用いた。前記ブタ組織を介して、線を8 Gy / 分の出力で、合計10 Gy照射した。

【0175】

(3) トリブシン包含ゲルの平均粒径の算出

続いて、(1)で作製したトリブシン包含ゲルについて、(2)の線照射前後の粒径を測定した。線照射前後のトリブシン包含ゲルについて、ろ過を行った。続いて、動的光散乱(dynamic light scattering; DLS)装置(Zetasizer Nano ZS、Malvern社製)を用いて、各トリブシン包含ゲルの粒径を測定した。結果を図3に示す。

【0176】

図3から、線照射前のトリブシン包含ゲルの粒径は60 nm ~ 400 nmに分布しているのに対し、線照射後のトリブシン包含ゲルの粒径は50 nm ~ 230 nmに分布していた。また、平均粒径についても、線照射前のトリブシン包含ゲルの平均粒径は約180 nmであるのに対し、線照射後のトリブシン包含ゲルの平均粒径は約120 nmであった。

これは、線照射により、PEG-SS-Ac内のジスルフィド結合が切断され、生成された硫黄ラジカルが、トリブシン包含ゲル中のその他のジスルフィド結合を攻撃し、再結合を形成することにより、ゲルの網目が組代わり、ゲル内に含まれていたトリブシンがゲル外に放出されたため、トリブシン包含ゲルの粒径が線照射前よりも小さくなったと推察された。

【0177】

(4) トリブシン活性の測定

線照射後、トリブシン包含ゲル溶液各100 μ Lずつと、10 μ g/mLのBODIPY FL カゼイン(Invitrogen社製)100 μ Lとを、96ウェルプレートに加えた。続いて、プレートを37 °Cで1.5時間インキュベートした。続いて、マルチプレートリーダー(Infinite M200 PRO、TECAN社製)を用いて、蛍光強度(Ex 485 nm、Em 535 nm)を測定した。結果を図4に示す。コントロールとして、線を照射していないトリブシン包含ゲル溶液についても測定を行った(図4中、「0 Gy」)。また、図4中、「10 Gy with tissue shield」とは、(2)において、ブタ組織を介して線を照射したものを示す。

【0178】

図4から、直接線を照射したものと、ブタ組織を介して線を照射したものとで、トリブシンの活性に差が見られなかった。よって、生体内において、照射された線はトリブシン包含ゲルに到達し、分解させることができ、所望の場所において所望のタイミングでトリブシンを活性化できることが示唆された。

【0179】

以上のことから、本発明の放射線分解性架橋剤は、10 Gyという低線量の放射線による分解性を有し、所望の場所において所望のタイミングで分解可能であることが明らかとなった。

【産業上の利用可能性】

【0180】

本発明によれば、低線量の放射線による分解性を有し、所望の場所において所望のタイミングで分解可能な放射線分解性架橋剤を提供することができる。また、本発明の放射線分解性ゲルは、内包する生理活性物質の種類を問わず、生体深部等においても、簡便に生

10

20

30

40

50

理活性物質の活性化における時期的、空間的及び量的制御を行うことができる。これにより、放射線増感剤のキャリア、DDS（ドラッグデリバリーシステム）におけるキャリア、化粧品用のナノ粒子等への応用が期待できる。

【符号の説明】

【0181】

1 ... ジスルフィド結合、2 ... 放射線分解性ゲル、3 ... 生理活性物質、4 ... 放射線、5 ... 硫黄ラジカル、10 ... 生理活性物質包含ゲル。

【図1】

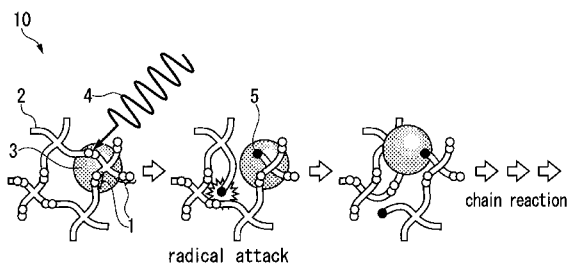


図1

【図2】

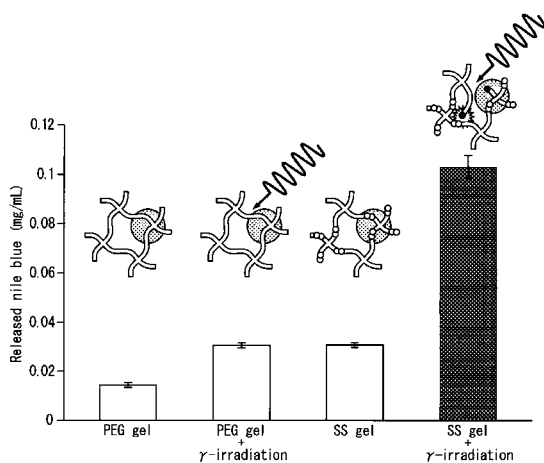


図2

【図3】

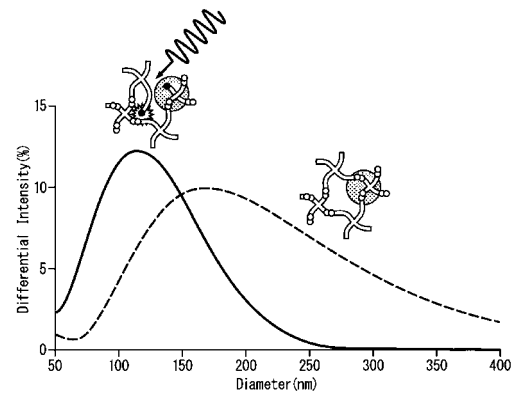


図3

【図4】

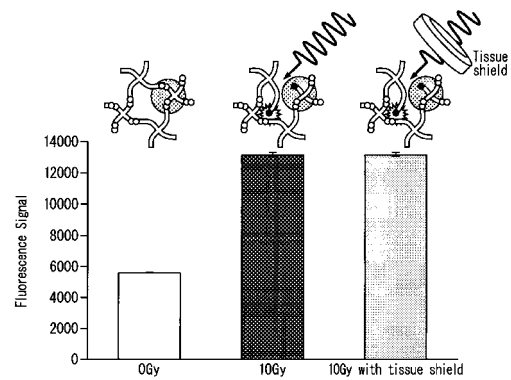


図4

フロントページの続き

- (72)発明者 青木 伊知男
千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所内
- (72)発明者 城 潤一郎
千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所内
- (72)発明者 佐賀 恒夫
千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所内

F ターム(参考) 4C076 AA09 EE23 EE47 FF70
4J005 AA02 BD05 BD06
4J100 AL67P AM23P BA02P BA08P BA34P BA50P BC43P JA50